Aus der
Augenklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. H. Pau

und der

Abteilung für Parasitologie des
Zoologischen Instituts der Universität Düsseldorf

Leiter: Professor Dr. rer. nat. H. Mehlhorn

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an **Dipetalonema witei** (Nematoda: Filariidae) unter besonderer Berücksichtigung des Auges

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ulrich Steinhorst

aus Münster

1982

Aus der

Augenklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr.med. H. Pau

und der

Abteilung für Parasitologie des
Zoologischen Instituts der Universität Düsseldorf

Leiter: Professor Dr.rer.nat. H. Mehlhorn

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Dipetalonema witei (Nematoda: Filariidae) unter besonderer Berücksichtigung des Auges

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Ulrich Steinhorst

aus Münster

1982

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.:
Prof.Dr.med. H.T. Brüster

Referent
gez.:
Prof.Dr.med.J. Grüntzig

Korreferent
gez.:
Prof.Dr.med.G. Arnold

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
1.1.	Tropische Elephantiasis	2
1.2.	Onchozerkose	3
1.3.	Loiasis	6
1.4.	Therapie der Filariosen	7
1.5.	Tiermodelle	8
1.5.1.	Dipetalonema witei	8
1.5.2.	Übertragung von Filarienlarven auf Kaninchenaugen	9
2.	Problemstellung	12
3.	Material und Methoden	14
3.1.	Untersuchungen bei natürlichem Entwicklungszyklus in Mastomys natalensis und Meriones persicus	14
3.1.1.	Augenpräparation	17
3.2.	Tierexperimentelle Untersuchungen an Kaninchenaugen	18
3.3.	Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen	21
4.	Ergebnisse	23
4.1.	Zur Morphologie der adulten Filarien und der Mikrofilarien	23
4.1.1.	Kutikula	23
4.1.2.	Hypodermis	25
4.1.3.	Nervensystem	25
4.1.4.	Muskulatur	26
4.1.5.	Verdauungstrakt	27
4.1.6.	Männliche Geschlechtsorgane	28
4.1.7.	Weibliche Geschlechtsorgane	28
4.1.8.	Morphologie der Mikrofilarien	30

Seite

4.2. Organbefall unter natürlichen Bedingungen und unter Therapie mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat 31

4.1.2. Zentralnervensystem 31
4.2.2. Retikuloendotheliales System 32
4.2.3. Parenchymatöse Organe 33
4.2.4. Muskulatur 35
4.2.5. Subkutis 37

4.3. Augenbefall unter natürlichen Bedingungen und unter Therapie mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat 38

4.3.1. Vorderer Augenabschnitt 38
4.3.2. Hinterer Augenabschnitt 39

4.4. Experimentelle Übertragung verschiedener Larvenstadien auf Kaninchenaugen 42

4.4.1. Inokulation von Mikrofilarien (L_1-Larven) 42
4.4.1.1. Subkonjunktivale Inokulation 42
4.4.1.2. Inokulation in die Vorderkammer 44
4.4.1.3. Inokulation in den Glaskörper 48
4.4.2. Inokulation von metazyklischen Larven (L_3-Larven) 52
4.4.2.1. Subkonjunktivale Inokulation 52
4.4.2.2. Inokulation in die Vorderkammer 54
4.4.2.3. Inokulation in den Glaskörper 57

5. Diskussion 62

6. Zusammenfassung 83

7. Literatur 87

8. Verzeichnis der in den Abbildungen verwendeten Abkürzungen 97

9. Abbildungen 101

1. Einleitung

Unter der Bezeichnung "Filariosen" werden verschiedene Krankheitsbilder zusammengefaßt, die durch Fadenwürmer (Nematoda: Filariidae) bzw. deren Larven hervorgerufen werden. Die humanmedizinisch relevanten Filarien sind ausschließlich in den Tropen und Subtropen endemisch verbreitet. Die Anzahl der befallenen Menschen wird weltweit auf etwa 400 Millionen geschätzt. Zu den wichtigsten Filariosen zählen die tropische Elephantiasis (Wuchereria bancrofti, Brugia malayi) mit ca. 250 Millionen Erkrankten, die Onchozerkose (Onchocerca volvulus) mit ca. 40 Millionen Erkrankten und die Loiasis (Loa loa) mit ca. 13 Millionen Erkrankten.

Die getrenntgeschlechtlichen Fadenwürmer (Filarien) sind obligate Endoparasiten, deren humanpathogene Arten vorwiegend im Bindegewebe oder im Lymphgefäßsystem leben. Die Weibchen sind stets vivipar bzw. ovovivipar und setzen Millionen von Larven (Mikrofilarien) ab. Diese benötigen zu ihrer Weiterentwicklung einen Wechsel in einen Zwischenwirt, einen blutsaugenden Arthropoden, in dem sie sich über zwei weitere Larvenstadien zu sogenannten metazyklischen Larven entwickeln. Diese für den Menschen infektiösen Larven werden durch den Zwischenwirt bei der erneuten Blutaufnahme wieder auf den Menschen übertragen, wo sie sich über ein weiteres Larvenstadium zu adulten Filarien entwickeln.

1.1. Tropische Elephantiasis

Die Erreger dieser Erkrankung sind neben O.volvulus (s. dort) W.bancrofti und B.malayi. W.bancrofti ist in Südamerika, Zentralafrika und Asien weit verbreitet, während B.malayi sich auf den asiatischen Kontinent beschränkt. Die 10 cm langen und 0,2 bis 0,3 mm dicken weiblichen Fadenwürmer gebären sogenannte "gescheidete" Mikrofilarien, das heißt, sie befinden sich noch in ihrer Eihülle (Ovoviviparie). Diese Hülle wird erst nach Aufnahme der Larven in den Zwischenwirt abgestreift. Die Mikrofilarien erreichen nach ihrer Geburt über das Lymphgefäßsystem das periphere Blut, wo sie jedoch nur nachts nachzuweisen sind. Als Zwischenwirte fungieren die nachts stechenden Mückenarten Aedes spec. und Culex spec.

Subjektive Frühsymptome der Erkrankung bestehen in Gefühllosigkeit und Schwäche der Extremitäten, Juckreiz im Bereich der Achselhöhlen sowie Schmerzempfindungen im Bereich der Leisten und der Hoden. Objektiv findet man Lymphknotenvergrößerungen, Lymphangitiden und eine Eosinophilie im Differentialblutbild. Erst später treten Milzvergrößerung, Lungeninfiltrate und Lymphstauungen im Bereich der Extremitäten hinzu. In Folge des chronischen lymphostatischen Ödems entwickeln sich über Jahre durch fibrosklerotische Veränderungen stark ausgeprägte irreversible Gewebsschwellungen, die häufig zu monströsen Dimensionen des betroffenen Körperteiles führen.

Häufigste Veränderungen am Auge sind Lidschwellungen.

Lediglich eine Mitteilung liegt über das subkonjunktivale Vorkommen von Adulten von B.malayi vor (Dissanaike et al., 1974). Filarien von W.bancrofti wurden dagegen verschiedentlich in der Vorderkammer beobachtet und extrahiert (Barkan, 1876; Nayar, 1932; Wright, 1934; Tawara, 1936; McMullen, 1937; Chatterji, 1954). Einzelne Autoren berichten von exsudativen Iritiden mit Sekundärglaukom und gelegentlichen Netzhautblutungen bei intraokulärem Auftreten der Würmer.
Über das Vorkommen von Mikrofilarien im Auge liegen nur nur wenige Beobachtungen vor. McMullen (1939) fand beispielsweise drei Mikrofilarien von W.bancrofti in der Vorderkammer eines Patienten.

1.2. Onchozerkose

Die Onchozerkose kommt in Mittel- und Südamerika, Afrika und auf der arabischen Halbinsel vor. Die Anzahl der an den Folgen dieser Filariose erblindeten Menschen wird auf 1 bis 2 Millionen geschätzt. Die weiblichen Filarien (O.volvulus) werden bis zu 70 cm lang, die Männchen erreichen nur eine Länge von 2 bis 4 cm. Beide Geschlechter finden sich in subkutanen Bindegewebsknoten (Onchozerkome). Die Weibchen setzen eine große Anzahl ungescheideter Mikrofilarien ab, die sich im Bindegewebe der Haut über die gesamte Körperoberfläche verbreiten. Als Zwischenwirte fungieren die Weibchen geographisch verschiedener Kriebelmückenarten der Gattung Simulium, in denen sich die Mikrofilarien innerhalb von ca. 12 Tagen nach ihrer Aufnahme zu infektiösen, metazyk-

lischen Larven entwickeln. Als Brutplätze für die Kriebelmücken fungieren schnellfließende, sauerstoffreiche, etwa 18 bis 22° C warme Gewässer. Daraus resultiert das für die Onchozerkose typische Verbreitungsgebiet an Bächen und schnellfließenden Flüssen entlang, was zu der Krankheitsbezeichnung "River-Blindness" führte.

Zu den Hauptsymptomen der Erkrankung zählen die erwähnten subkutanen Knoten. Sie sind schmerzlos und in der Regel an Stellen lokalisiert, an denen die Haut dem Knochen dicht aufliegt. Weitere Krankheitszeichen sind chronische Dermatitiden mit quälendem Juckreiz und durch Kratzeffekte verursachte Sekundärinfektionen. Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium treten Lichenifizierungen und Pigmentstörungen der Haut hinzu. Im Bereich des Lymphgefäßsystems werden Entzündungen und Lymphostase beobachtet (Elephantiasis).

Im Auge werden häufig Mikrofilarien beobachtet, die sich bevorzugt in der Kornea und der Vorderkammer, aber auch im Glaskörper aufhalten. Im frühen Stadium der Erkrankung entwickeln sich im oberflächlichen Drittel des Hornhautstromas punktförmige Infiltrate um abgestorbene Mikrofilarien herum (Keratitis punctata). Eine langjährige Invasion von Filarienlarven in das Auge führt zu sklerosierender Keratitis, Iridozyklitis, Chorioretinitis, Optikusatrophie und Sekundärglaukom.

Die für die Erkrankung typische sklerosierende Keratitis beginnt meist peripher bei 2 bis 4 Uhr und 8 bis 10 Uhr, wobei sich dichte, weiß-gelbliche Infil-

trationen mit nachfolgender Pigmentation und oberflächlicher Vaskularisation zungenförmig in die Hornhaut vorschieben. Im Spätstadium ist die gesamte Hornhaut auf diese Weise verändert. Terminal kommt es zur Kalzifikation und damit zur Erblindung.

Ein weiteres häufiges Symptom ist eine leichte Iritis bei sonst reizlosem Auge. In schwereren Fällen kommt es zu Pseudohypopyon-Iritis, saumförmigen Synechien am unteren Pupillenrand, Atrophie des Irisstromablattes sowie charakteristischen birnen- bis tennisschlägerförmigen Verziehungen der Pupille.

Im hinteren Augenabschnitt beschrieben Ridley (1945) und andere Autoren eine Gefäßsklerose der Chorioidea und typische degenerative Veränderungen des Pigmentepithels mit schollenförmigen Pigmentansammlungen (getigerter Aspekt). Häufig werden auch Verdünnung der Arterien, Periarteriitis, Papillitis und Optikusatrophie beschrieben.

Die Fundusveränderungen beginnen mit einer Pigmentverschiebung zwischen Makula und Papille, gefolgt von einer umschriebenen Sklerose der Choriokapillaris, so daß die Aderhautgefäße durchscheinen. Bei der klassischen Verlaufsform dehnt sich die Sklerose zunächst temporalwärts, dann nasalwärts aus. Die Makula wird erst später betroffen. Im Anschluß an ein Ödem bilden sich klumpige Pigmentationen in Form schwarzer Pigmentansammlungen oder rot-brauner Pigmentflecken im Bereich der Makula.

Bei einigen Patienten finden sich punktförmige gelbliche Netzhauteinlagerungen im Sinne einer "Retinitis punctata albescens". Diese Herdchen liegen meist

ringförmig um die Makula und sollen vermehrt unter der medikamentösen Behandlung mit Diäthylkarbamazin (Hetrazan^{R}) und Suramin (Bayer 205^{R}) auftreten (Lit.: Grüntzig, 1981).

1.3. Loiasis

Loa loa - bekannt auch als "afrikanischer Augenwurm" oder "Wanderfilarie" - ist ein weitverbreiteter Parasit in Westafrika. Die geographische Verbreitung deckt sich weitgehend mit der Ausdehnung des afrikanischen Regenwaldes bzw. mit dem Vorkommen des Zwischenwirtes Chrysops spec.

Die weiblichen Filarien erreichen eine Länge von 7 cm, die Männchen von 3,5 cm. Die gescheideten Mikrofilarien sind nur am Tag im peripheren Blut nachweisbar. Die adulten Würmer wandern in der Subkutis des Menschen umher, wobei sie flüchtige Hautrötungen und Schwellungen hervorrufen können ("Kamerunbeulen", "Kalabarschwellungen"). Obligat ist stets eine Eosinophilie. Zu den eher seltenen Komplikationen der Erkrankung gehören Pneumopathien, Meningoenzephalitiden, Endokarditiden und Nephropathien.

Im Verlauf ihrer Wanderung gerät die Filarie nicht selten unter die Konjunktiva. Heftiger Juckreiz, stechende Schmerzen, Lichtscheu und Entzündungen zwingen den Patienten für die Dauer des subkonjunktivalen Aufenthaltes der Filarie zu krampfhaftem Lidschluß. In der Regel halten diese Symptome nur wenige Stunden an. Über das Vorkommen von L.loa in

in der Vorderkammer ist mehrfach berichtet worden (Lucot, 1972; Osuntokun et al., 1975). Ferner liegen verschiedene Publikationen über das Auftreten von Lidödemen und Exophthalmus bei L.loa-Infekion vor.

Mikrofilarien sind bisher nur am hinteren Augenpol beschrieben worden, wo sie sich ausschließlich in retinalen und chorioidalen Gefäßen befanden. Maertens et al. (1976) berichten außerdem über Arterienverschlüsse, Netzhautblutungen und Optikusatrophien unter L.loa-Mikrofilariämie.

1.4. Therapie der Filariosen

Für die Filariosen gibt es bisher keine befriedigende Prophylaxe und Therapie. In endemischen Gebieten, wo eine Re-Infektion nicht ausgeschaltet werden kann, wird allgemein von einer medikamentösen Behandlung abgeraten. Außerhalb der endemischen Gebiete kann mit dem Mikrofilarizid Diäthylkarbamazin (Hetrazan^{R}) und dem makrofilariziden Suramin (Bayer 205^{R}) behandelt werden.
Hinzu kommen chirurgische Maßnahmen wie plastische Verfahren bei der Elephantiasis oder Entfernung aller erreichbaren Hautknoten bei der Onchozerkose.

Die medikamentöse Behandlung ist nicht ungefährlich; es wurden tödliche Komplikationen durch toxische Wirkungen oder allergische Reaktionen beobachtet.

1.5. Tiermodelle

Humanpathogene Filarien sind in der Regel wegen ihrer hohen Wirtsspezifität nicht auf die üblichen Versuchstiere zu übertragen und deshalb nur mit erheblichen Einschränkungen für die Forschung zugänglich. In der pharmakologischen Forschung war man bei der Testung von Substanzen auf infizierte Versuchstiere angewiesen, die in der freien Wildbahn gefangen worden waren. Neben hohen Kosten war die fehlende Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit der Versuchsbedingungen und Ergebnisse ein Hauptnachteil dieser Methode. Es bedeutete daher einen großen Fortschritt, als es schließlich gelang, tierpathogene Filarien wie Litomosoides carinii und Dipetalonema witei unter Laboratoriumsbedingungen in Kleinnagern zu kultivieren.

1.5.1. Dipetalonema witei

Die in der vorliegenden Arbeit interessierende Nagerfilarie Dipetalonema witei (syn. D.viteae, D. blanci) wurde 1952 in Persien in Wüstenmäusen der Gattung Meriones entdeckt (Chabaud, 1952). Die Aufrechterhaltung des Entwicklungszyklus unter Laboratoriumsbedingungen gelang erstmals 1953 (Baltazard et al., 1953). Natürlicher Hauptwirt ist Meriones libycus, Zwischenwirt ist die Zecke Ornithodoros tartakovskyi. In Forschungslaboratorien wird meistens die mäuseartige Mastomys natalensis mit der afrikanischen Zecke Ornithodoros moubata kombiniert (Sänger et al., 1979; Thomas, 1979 a, b). Der adul-

te Wurm hält sich in der Subkutis des Hauptwirtes auf, wobei er die Axilla, den Inguinalbereich und den Rücken zu bevorzugen scheint (Worms et al., 1961). Die weiblichen Exemplare werden etwa 40 mm lang, während die männlichen lediglich eine Länge von 33 mm erreichen. Die Mikrofilarien sind ungescheidet und entwickeln sich nach Aufnahme in den Zwischenwirt über zwei Entwicklungsstadien zu metazyklischen L_3-Larven. Diese entwickeln sich nach Übertragung auf den Hauptwirt über ein weiteres Larvenstadium zu adulten Filarien, die etwa 42 bis 65 Tage post infektionem mit der Produktion von Mikrofilarien beginnen. Spitzenkonzentrationen von Larven im peripheren Blut findet man nach etwa 80 Tagen p.i.

1.5.2. Übertragung von Filarienlarven auf Kaninchenaugen

Duke et al. (1972, 1975 a, 1976) führten im Rahmen der Onchozerkose-Forschung verschiedene Experimente mit O.volvulus-Mikrofilarien an Kaninchenaugen durch. Sie gewannen die Larven unter sterilen Bedingungen aus Hautbiopsien.

Sie immunisierten u.a. mehrere Versuchstiere durch intravenöse Injektion lebender bzw. abgetöteter Mikrofilarien. Anschließend inokulierten sie beiden Tiergruppen lebende Mikrofilarien subkonjunktival. Es zeigte sich, daß die auftretenden Läsionen (Chemosis, Keratitis parenchymatosa, Abszesse) bei den mit lebenden Mikrofilarien vorimmunisierten Tieren zahlreicher und heftiger ausgeprägt waren. Sie

galten daher als sensibilisiert gegen Substanzen und Stoffwechselprodukte der Filarienlarven. Bei wiederholter subkonjunktivaler Inokulation lebender Larven fanden Duke et al. Veränderungen im Sinne einer sklerosierenden Keratitis, wie sie auch bei der menschlichen Onchozerkose vorkommen. Sie schlossen aus diesen Beobachtungen, daß auch bei der Onchozerkose eine wiederholte Antigenexposition Voraussetzung für das Entstehen okulärer Schäden ist (Duke et al., 1975 a).

In einem weiteren Experiment wurden Art und Umfang kornealer Läsionen verglichen, die durch Larven verschiedener geographischer Verbreitungsgebiete nach subkonjunktivaler Inokulation hervorgerufen worden waren. Sie fanden, daß aus Savannengebieten stammende O.volvulus-Larven ein höheres Vermögen besaßen, in die Hornhaut einzudringen, und daß unter ihrer Einwirkung schwerere Schäden am Auge auftraten als bei Inokulation von Larven aus Regenwaldgebieten. Duke et al. zogen daraus den Schluß, daß aus der Savanne stammende Larven eine höhere Pathogenität besitzen als jene aus dem Regenwald (Duke et al., 1972; Garner et al., 1973).

Ein letzter Versuch befaßt sich schließlich mit den Auswirkungen einer Mikrofilarieninokulation in den hinteren Augenabschnitt. Hierzu inokulierten Duke et al. O.volvulus-Larven in den Glaskörper und subretinal. Es stellten sich jeweils massive Entzündungen ein, die über Wochen anhielten. Nach subretinaler Inokulation waren die Symptome heftiger und zahlreicher als nach Inokulation in den Glaskörper. Es fanden sich Papillenabblassungen, Gefäßverengerungen, subretinale entzündliche Exsudate,

Pigmentstörungen und Chorioretinitiden. Diese Veränderungen stellten sich erheblich schneller ein als die für die Onchozerkose typischen Entzündungen. Gleichwohl fanden Duke et al. deutliche Ähnlichkeiten (Duke et al., 1976 a; Garner et al., 1976).

2. Problemstellung

Bisher liegen keinerlei elektronenoptische Untersuchungen zum Mikrofilarienbefall des Auges bei human- oder tierpathogenen Filariosen vor. In der vorliegenden Arbeit soll daher das Nagerauge unter Mikrofilariämie bei natürlicher Infektion systematisch untersucht werden. Dabei soll auf die Untersuchung der Larvenverteilung über das Sehorgan besonderer Wert gelegt werden.

Ferner soll in einem Tierexperiment nach Inokulation verschiedener Larvenstadien in Kaninchenaugen geprüft werden, ob ähnliche Veränderungen eintreten wie sie bei der Onchozerkose am Auge beobachtet werden können. Außerdem wird untersucht, ob die inokulierten Larven fähig sind, das Auge zu verlassen. Besondere Aufmerksamkeit wird einer möglichen Weiterentwicklung der metazyklischen Larven zu L_4-Larven bzw. adulten Filarien gewidmet.

Eine systematische Untersuchung verschiedener Organe und Gewebe bei natürlicher Infektion und unter Therapie mit verschiedenen Filariziden soll Auskunft über organspezifische Unterschiede der Mikrofilariendichte sowie Veränderungen der Organverteilung unter Therapie geben. Einen gesonderten Aspekt bilden in diesem Zusammenhang Veränderungen der Mikrofilarienmorphologie unter Therapie.

Zur Morphologie der adulten Filarien liegen bisher lediglich Beobachtungen über die Ultrastruktur der

Sinnesorgane, die Entwicklung der Keimzellen und die Befruchtungsvorgänge vor.
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen weitere Untersuchungen über den Hautmuskelschlauch ("Exoskelett") der adulten Filarien unter dem Aspekt, daß sich hier die Auseinandersetzungen zwischen dem Parasiten und dem wirtseigenen Immunsystem abspielen, und über die Entwicklung der Embryonen und Mikrofilarien in utero durchgeführt werden.

3. Material und Methoden

3.1. Untersuchungen bei natürlichem Entwicklungszyklus in Mastomys natalensis und Meriones persicus

Es wurden fünf Mastomys natalensis und eine Meriones persicus untersucht, die durch intraperitoneale Inokulation von metazyklischen Larven infiziert worden waren. Zur Kontrolle der Infektionsdosis bei ihrer Übertragung auf den Hauptwirt waren die infektiösen Larven in Ringerlösung von der Zecke isoliert und nach Auszählung in der Zählkammer z.B. nach Fuchs-Rosenthal appliziert worden. Die Tiere stammten aus einem Versuchsprogramm des Institutes für Chemotherapie der Firma Bayer AG, Wuppertal*, wo sie zur Testung filarizider Substanzen gehalten wurden. Vier Tiere waren unbehandelt, sie zeigten im peripheren Blut Mikrofilariendichten zwischen 380 Mf./0,1 ml Blut und 440 Mf./0,1 ml Blut. Die Bestimmung der Mikrofilarien erfolgte durch Punktion des retroorbitalen Venenplexus und ebenfalls durch Auszählung in der Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal (Nöller, 1955; Raether et al., 1967). Ein fünftes Tier war mit Diäthylkarbamazin** in drei

---

* Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle Herrn Dr. Thomas für die Bereitstellung des Materials.

** Diäthylkarbamazin = Hetrazan^{R}

Dosen zu je 250 mg/kg und ein sechstes mit Metrifonat* in drei Dosen zu je 100 mg/kg behandelt worden. Die Pharmaka waren jeweils um 8^{00} Uhr und 16^{00} Uhr des Vortages sowie um 8^{00} Uhr am Tage der Sektion per os appliziert worden. Bei beiden Tieren waren an diesem Tag keine Mikrofilarien im peripheren Blut nachgewiesen worden. Zur Probenentnahme wurden die Tiere in Chloroformdampf getötet und anschließend seziert. Neben den in der Subkutis aufgesuchten adulten Filarien wurden die in der Tabelle 1 aufgeführten Organproben entnommen. Die Strukturen des Innenohres wurden von Herrn Professor Dr.med. Arnold, HNO-Klinik der Universität, entnommen und untersucht. Alle Proben wurden sofort nach der Entnahme in 5% wässriger Glutaraldehydlösung für die Elektronenmikroskopie fixiert.

---

* Metrifonat = Dipterex^{R}

Tabelle 1:

Organproben von Mastomys und Meriones

Auge	Kornea Iris Ziliarkörper Bulbuswand Sehnervenstumpf mit Papille
Lymphatisches System	Milz Lymphknoten
Zentralnervensystem	Großhirn
Parenchmatöse Organe	Leber Lunge Niere
Muskulatur	Zwerchfell Muskulus quadrizeps femoris Herzmuskulatur
Sonstige Proben	Innenohr* Subkutis

* Für die Entnahme und elektronenmikroskopische Untersuchung danke ich Herrn Professor Dr.med. Arnold (HNO-Klinik der Universität Düsseldorf).

3.1.1. Augenpräparation

Um die Entnahme der Bulbi zu erleichtern, wurde die temporale knöcherne Wand der Orbita zur Erweiterung des Zugangs mittels einer Schere durchtrennt. Anschließend wurde der Konjunktivalsack zirkulär umschnitten und die Augenmuskeln vom Bulbus abgetrennt. Erst nach dieser Vorbereitung konnten die Scherenblätter tief genug hinter den hinteren Pol des Auges geführt werden, um den gesamten Bulbus mit einem 1 bis 2 mm langen Stumpf des Nervus opticus aus der Orbita zu befreien. Für die Kunstharzeinbettung wurde die Bulbuswand entlang des Äquators durchschnitten, so daß der vordere vom hinteren Augenabschnitt getrennt wurde. Nach Entfernung der Linse wurde ein zentrales, rundes, im Durchmesser etwa 1,5 mm großes Stück der Kornea ausgeschnitten und eingebettet. Es blieb eine ringförmige Struktur übrig, die alle Bestandteile des Kammerwinkels enthielt. Dieser Ring wurde durch radiäre Schnittführung in einzelne, in Seitenansicht Y-förmige Stücke zerlegt, jedes einen peripheren Anteil der Kornea, einen Abschnitt der Sklera, die Iris und den Ziliarkörper enthaltend. Diese Proben wurden so eingebettet, daß auf dem späteren Schnitt ebenfalls wieder alle Komponenten des Kammerwinkels erschienen. Von der hinteren Bulbushälfte wurde zuerst der Sehnerv mit der Papille und einem Teil der Bulbuswand präpariert. Dieser wurde so eingebettet, daß die histologischen Schnitte in der Längsrichtung des Nerven erfolgen konnten. Die Einbettung der übrigen Bulbuswand erfolgte in der Weise, daß sämtliche Schichten,

also Retina, Chorioidea und Sklera, geschnitten werden konnten. Insgesamt wurden zwölf Bulbi von unbehandelten Tieren und vier Bulbi von Tieren, die mit Filariziden behandelt worden waren, untersucht.

3.2. Tierexperimentelle Untersuchungen an Kaninchenaugen

Einer Gruppe von sieben Kaninchen wurden Mikrofilarien und einer zweiten Gruppe von ebenfalls sieben Tieren metazyklische Larven in Allgemeinnarkose in verschiedene Abschnitte des Auges appliziert. Als Narkotika wurden Rompun^{R} in 2% wässriger Lösung in einer Dosis von 5 mg/kg und Vetalar^{R} in einer Dosis von 25 mg/kg in einer Spritze aufgezogen und intramuskulär injiziert. Die Larven waren in Ringerlösung suspendiert in Konzentrationen von 137.000/ml (L_1-Larven) und 1.670/ml (L_3-Larven). Beide Suspensionen waren im Institut für Chemotherapie der Bayer AG, Wuppertal, hergestellt worden. Die Tiere wurden während der gesamten Versuchsdauer im zentralen Tierstall der Universität gehalten, wo sie Höveler Geflügelpellets und Trinkwasser ad libitum erhielten. Tabelle 2 und 3 geben die Applikationsorte am Auge (es wurden immer 0,3 ml Suspension injiziert), die Versuchsdauer bis zur Sektion und die untersuchten Proben wieder. Pathologische Veränderungen des Allgemeinzustandes sowie Befunde an den Augen wurden kontinuierlich protokolliert und mit der KOWA-RC-2 Funduskamera dokumentiert.

Zum Ende des Versuchs wurden die Tiere vom Tierpfleger durch Genickschlag getötet und zur Probenentnahme seziert.

Abkürzungen zu den Tabellen 2 und 3

B	Bulbuswand
EK	Epikanthus
GK	Glaskörper
H	Herzmuskel
I	Iris
Ko	Konjunktiva
Kr	Kornea
L	Linse
LA	Linkes Auge
Le	Leber
Lk	Lymphknoten
Lu	Lunge
Mi	Milz
N	Niere
P II	Unterlid
P III	Nickhaut
RA	Rechtes Auge
SK	Subkonjunktivale Applikation
VK	Vorderkammer
Z	Zwerchfell
Zk	Ziliarkörper

Tabelle 2: Organproben der mit Mikrofilarien inokulierten Versuchstiere (Abkürzungen s.S. 19)

Tier-Nr.	Gewicht (g)	Applikations-Ort	Sektion (p.i.)	Proben		
				Auge	Drainage	Organe
1	3450	RA: SK	38. Wo.	Ko	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
2	3420	RA: SK	38. Wo.	Ko	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
3	2610	RA: VK	44. Wo.	Ko, Kr, I, Zk, Gk	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
4	3520	RA: VK	24. Wo.	Ko, Kr, I, Zk, L	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
5	4400	RA: GK	51. Wo.	B	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
6	4300	RA: GK	1. Wo.	I, Zk, B	Lk	Lu, H, Z, Mi, N
7	3250	RA: GK	48. Wo.	keine Probenentnahme		

Tabelle 3 : Organproben der mit metazyklischen Larven inokulierten Versuchstiere (Abkürzungen s.S. 19)

Tier-Nr.	Gewicht (g)	Applikations-Ort	Sektion (p.i.)	Proben		
				Auge	Drainage	Organe
8	3000	RA: EK LA: EK	57. Wo.	RA: P II, Ko, Kr LA: P II Ko, Kr	Lk	Lu, H, Z, Mi, N, Le
9	2950	RA: GK LA: SK	58. Wo.	RA: B LA: P II, P III, Ko, Kr	Lk	Lu, H, Z, Mi, N, Le
10	3170	RA: SK LA: SK	58. Wo.	RA: P II, P III, Ko, Kr LA: wie RA	LK	Lu,H, Z, Mi, N, Le
11	3740	RA: VK	56. Wo.	Ko, Kr, I, Zk	Lk	Lu, H, Z, Mi, N, Le
12	3250	RA: VK	56. Wo.	Ko, Kr, I, Zk	Lk	Lu, H, Z, Mi, N, Le
13	2950	RA: GK	56. Wo.	B	Lk	Lu, H, Z, Mi, N, Le
14	1550	RA: GK	4. Wo.	keine Probenentnahme		

3.3. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen

Alle Organproben und adulten Filarien wurden in frisch angesetztem 5% Glutaraldehyd, gelöst in wässrigem 0,1 M Na-Cacodylat-Puffer fixiert, der mit 1 N Salzsäure auf pH 7,2 bis 7,3 titriert worden war, für mindestens 24 Stunden bei 4° C aufbewahrt. Das Glutaraldehyd wurde zunächst durch häufiges Spülen mit reinem Puffer ausgewaschen. Es folgte eine zweistündige Vorkontrastierung in 2% OsO_4-Lösung. Nach wiederholtem Auswaschen des freien OsO_4 wurden die Proben über die Alkoholreihe in absolutes Äthanol überführt, wobei auf der Stufe des 70% Äthanols für zwei Stunden eine Blockkontrastierung mit 1% Uranylacetat und 1% Phosphorwolframsäure erfolgte. Danach wurde in 100% Äthanol über gebranntem $CuSO_4$ entwässert und anschließend schrittweise durch reines Propylenoxid ersetzt. Zur Gewinnung der Kunstharzstammlösung für die Einbettung wurden Araldit M und Araldit Härter zu gleichen Teilen zusammengefügt und 2% der Gesamtmenge Araldit Beschleuniger hinzugegeben. Die Proben wurden über die Mischungsstufen 1:3, 1:1 und 3:1 vom Propylenoxid in reine Araldit Stammlösung überführt, wobei sie in der letzten Mischungsstufe über Nacht belassen wurden, um ein ausreichendes Eindringen des Kunstharzes in alle Strukturen zu gewährleisten. Am folgenden Tag wurden die Organproben in 0,5 ml Gelatine-Kapseln eingebettet und zur Polymerisation 24 Stunden bei 45° C und anschließend 48 Stunden bei 60° C aufbewahrt. Von den ausgehärteten Blöcken wur-

den am Reichert OMV 3 - Ultramikrotom Semidünnschnitte von 0,5 µm Dicke angefertigt, die zur lichtmikroskopischen Beobachtung am Zeiss Universal-Fotomikroskop mit einer Lösung von 1% Azur II und 1% Methylenblau in 1% Borax zu gleichen Teilen gefärbt wurden. Die Ultradünnschnitte wurden mit gesättigter methanolischer Uranylazetat- und anschließend wässriger Bleizitrat-Lösung kontrastiert (Reynolds, 1963; Venable et al., 1965). Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden an einem Zeiss Elektronenmikroskop 9 S2 durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. Zur Morphologie der adulten Filarien und der Mikrofilarien

Dipetalonema witei hält sich in den meisten morphologischen Merkmalen an den allgemeinen anatomischen Bauplan der Nematoden (Abb. 1).

4.1.1. Kutikula

Der gesamte Wurmkörper einschließlich des proximalen Verdauungstraktes ist von einer derben Hülle, der Kutikula, umgeben. Die Dicke dieser Hülle ist weder am gleichen Wurm noch beim Vergleich verschiedener Individuen konstant, sie liegt durchschnittlich bei etwa 4 µm bis 5 µm, kann jedoch auch Werte bis 15 µm erreichen. Elektronenoptisch lassen sich von innen nach außen fünf Schichten unterscheiden (Abb. 2):

1. Basale Schicht (BS): Sie ist mit der Hypodermis eng verzahnt und besteht aus lockerem, elektronenlichten Material, das exozytoseartig von der Hypodermis gebildet wird und in einzelnen Lagen parallel zur Längsachse angeordnet ist. Ihre Dicke beträgt im Durchschnitt 0,6 µm.

2. Innere fibrilläre Schicht (IFS): Ihre Dicke variiert im Unterschied zur BS in relativ weiten Grenzen. So wurden in dieser Arbeit Werte von

0,6 µm bis 2,5 µm ermittelt. Sie besteht aus elektronendichten, radiär gelegenen Fibrillen, die paarweise angeordnet zu sein scheinen.

3. Mittlere Schicht (MS): Sie zeigt keinerlei Streifung oder sonstige Struktur, besteht vielmehr aus einer völlig homogenen Matrix. Ihre Dicke reicht von 1,2 µm bis 4,8 µm.

4. Äußere fibrilläre Schicht (ÄFS): Ihre Fibrillen sind ebenfalls radiär geordnet, lassen jedoch keine paarweise Anordnung erkennen. Bei der Messung der Dicke wurden Werte zwischen 0,6 µm und 5,9 µm gefunden.

5. Kortex (K): Dieser bildet den Abschluß zur Außenwelt. Es lassen sich drei Unterstrukturen unterscheiden: Die auf die ÄFS direkt folgende ist die Innere kortikale Schicht (IKS), an ihr lassen sich relativ konstante Werte von etwa 0,5 µm messen. Sie weist wenig Differenzierung auf und zeichnet sich lediglich durch eine hohe Elektronendichte aus. Ihr folgt die lichtere Äußere kortikale Schicht (ÄKS), die ebenfalls eine konstante Dicke von 0,6 µm aufweist. Auf Längsschnitten lassen sich in regelmäßigen Abständen aufeinander folgende Einkerbungen im Sinne einer Ringelung des Wurmkörpers erkennen, die bis zur Hälfte in die ÄKS eindringen. Eine Membran bildet den Abschluß gegen die Außenwelt (Abb. 3).

4.1.2. Hypodermis

Die Hypodermis umschließt als Deckgewebe den gesamten Wurmkörper, zu ihren wichtigsten Aufgaben gehört die Bildung der Kutikula. Zellgrenzen sind nicht zu erkennen, das Zytoplasma ist von zahlreichen, elektronendichten, granulären Strukturen durchsetzt, deren Konzentration zur Kutikula hin zunimmt und hier entlang der Basalschicht gelegentlich eine radiäre Anordnung aufweist. Jeweils dorsal und ventral sind Hypodermalleisten ausgebildet, die sich im Querschnitt tropfenförmig zwischen den Längsmuskelzellen in die Tiefe senken (Abb. 4). Sie enthalten zahlreiche, u.a. der Innervation der Muskelzellen dienende Axone. Eine weitere Besonderheit sind zwei Seitenleisten, die sich jeweils lateral in muskelfreien Bereichen gegenüberliegen. Deutlich kann ein äußerer granulärer Bereich von einem inneren lichten Bereich unterschieden werden, der wiederum zahlreiche Axone enthält.

4.1.3. Nervensystem

Aus einem etwa 200 µm vom vorderen Wurmende entfernten, den Ösophagus umschließenden Nervenring entspringen mehrere Axonbündel, die nach kaudal ziehen und neben den Afferenzen der kaudalen Sinnesorgane die Efferenzen für die Muskulatur enthalten. Je ein Hauptstrang verläuft dorsal und ventral in den Hypodermalleisten, weitere Axone verlaufen in den Seiten-

leisten. Die Hypodermis bildet um jedes einzelne Axon eine isolierende Zytoplasmascheide und übernimmt auf diese Weise eine Gliafunktion (Abb. 5).

4.1.4. Muskulatur

Jeweils zwischen den Lateralleisten und den dorsalen bzw. ventralen Hypodermalleisten liegen insgesamt vier Pakete von etwa zwölf parallel zur Längsachse des Wurmkörpers verlaufenden Muskelzellen; ringförmig angeordnete Muskelzellen existieren nicht. Auf Querschnitten erkennt man eine Unterteilung der Zellen in einen peripheren "Funktionsteil", in welchem die Aktin-Myosin-Elemente liegen, und einen zentralen "zytoplasmatischen Teil", der sehr elektronenlicht ist und keine kontraktilen Proteine enthält (Abb. 6). Der periphere Zellteil zeigt eine zweizeilige, "gefiederte" Anordnung der Myofibrillen, welche von Einkerbungen unterbrochen sind, die alle einem homogenen, lichten, kommunizierenden "interstitiellen" Raum angehören. In diesen Einkerbungen zeigt das Plasmalemm der Muskelzellen regelmäßig Membranverstärkungen (Abb. 4). In höheren Vergrößerungsstufen erkennt man, daß bis zu zwölf dünne Aktinfilamente um ein dickes Myosinfilament gruppiert sind (Abb. 8). Letztere scheinen aus einem dunklen Ring zu bestehen, der ein helles Zentrum umgibt. Eine Besonderheit der Nematodenmuskulatur ist auf Längsschnitten zu beobachten. Während die Achse der Muskelzelle parallel zur Wurmachse verläuft, bilden die Myofibrillen in Abhängigkeit vom Kontraktionszustand der Zelle einen mehr oder

weniger spitzen Winkel zu ihr. In Abbildung 7 beträgt dieser Winkel etwa 10°.

4.1.5. Verdauungstrakt

Hypodermis und Längsmuskulatur dienen als Hautmuskelschlauch auf der einen Seite der Formstabilisierung des Wurmkörpers ("Exoskelett"), auf der anderen Seite bilden sie die Wandung der mit Flüssigkeit gefüllten primären Leibeshöhle. In dieser befindet sich neben den Geschlechtsorganen der Verdauungstrakt, welcher den Wurmkörper als gerades Rohr durchzieht und in die Abschnitte Ösophagus, Mitteldarm und Rektum unterteilt werden kann. Abbildung 9 zeigt einen Ausschnitt aus dem Mitteldarm. Die Darmwand besteht hier aus einem einschichtigen Epithel. Die einzelnen zellulären Elemente sind charakterisiert durch seitliche Zellmembranen, welche zum Darmlumen hin miteinander durch Desmosomen verbunden sind. In das Lumen ragt ein dichter Mikrovillisaum, der eine Vergrößerung der Resorptionsoberfläche bewirkt. Die basale Zellmembran ist stark aufgefaltet und liegt einer etwa 1,3 µm dicken, homogenen Basalschicht auf, welche an die primäre Leibeshöhle grenzt. Das Zytoplasma ist relativ elektronendicht und von zahlreichen hellen Vesikeln und dunklen Granula durchsetzt (Abb. 10).

4.1.6. Männliche Geschlechtsorgane

Die männlichen Adulten von Dipetalonema witei besitzen einen unpaaren Hodenschlauch, der mit dem Rektum in einer gemeinsamen Austrittsöffnung mündet, welche dadurch definitionsgemäß zur Kloake wird. Die Entwicklung der Spermatozyten schreitet mit ihrer Wanderung durch den Hodenschlauch fort. Ursprung ist ein synzytiales Keimgewebe, aus dem die Spermatogonien entstehen, die wiederum durch Wachstum zu Spermatozyten I. Ordnung werden. In den nun folgenden Reifeteilungen entstehen Spermatozyten II. Ordnung, die eine Größe von 9 mal 3 µm erreichen können (Abb. 11). Sie enthalten neben einigen Mitochondrien und Golgi-Apparaten etwa sechs meist peripher gelegene, 0,3 bis 0,5 µm große, granuläre Gebilde, die zahlreiche tubuläre Strukturen enthalten. Zentral liegen zwei bis drei elektronendichte, ansonsten aber wenig differenzierte Granula, welche die Chromosomen enthalten. Zellkerne werden im Unterschied zu den Spermatogonien und den Spermatozyten I. Ordnung nicht ausgebildet. Ebenso wird die Ausbildung einer Geißel vermißt.

4.1.7. Weibliche Geschlechtsorgane

Außer Vagina und Vulva sind alle Bestandteile des weiblichen Geschlechtsapparates (Ovar, Ovidukt und Uterus) doppelt vorhanden. Die einzelnen Abschnitte sind u.a. an der Beschaffenheit des jeweiligen Epithels zu unterscheiden. Die Oogonien entstehen aus

einem synzytialen Keimgewebe, das im proximalen Ende des Ovars lokalisiert ist. Die Befruchtung der etwa 11 mal 7 µm großen, reifen Oozyten findet in einem meist entsprechend weitlumigen Teil des distalen Uterus statt, der als Receptaculum seminis fungiert (Abb. 12). Die Wand dieser Befruchtungskammer weist vier unterschiedliche Bereiche auf. Peripher befindet sich als Abschluß gegen die Leibeshöhle eine homogene, dichte, etwa 1,3 µm dicke Basalschicht, aus der sich zahlreiche zapfenartige, helle Strukturen hervorstülpen, die teilweise auch freiliegend im Plasma vorkommen. Es folgt ein Bereich, der reichlich von elektronendichten Granula durchsetzt ist. Den Abschluß zum Uteruslumen bildet ein Bereich, der fast ausschließlich aus labyrinthartig angeordneten Membranstrukturen besteht. Die befruchteten Eizellen sind im Uteruslumen sehr eng aneinandergelagert. Zwischen den Zellen befindet sich elektronendichtes Material, das als von der Uteruswand sezernierte Nährflüssigkeit aufgefaßt werden kann. Mit dem Einsetzen der ersten Zellteilungen bildet sich um jeden Embryo eine als Eischale interpretierte Scheide (Abb. 13), die erst bei der Geburt abgestreift wird. Die Abbildungen 13 bis 15 zeigen verschieden weit entwickelte Embryonen in ihren deutlich erkennbaren Scheiden. Zwischen den Scheiden befinden sich feine Kanälchen, die mit der Uteruswand in Verbindung stehen und vermutlich Nährflüssigkeit enthalten. Auf Abbildung 15 ist zentral im Uteruslumen ein toter Embryo zu sehen, der sich durch seine hohe Elektronendichte von den umgebenden vitalen Embryos unterscheidet. Abbildung 14 zeigt eine peripher gelegene, voll entwickelte

Mikrofilarie, die ihre Scheide bereits verlassen hat, neben zahlreichen Embryonen früher Teilungsstadien.

4.1.8. Morphologie der Mikrofilarien

Die anatomischen Merkmale der Mikrofilarien, die als L_1-Larven den niedrigsten Differenzierungsgrad aufweisen, lassen die Morphologie der Adulten bereits im Ansatz erkennen. Die äußerste Hülle des Larvenkörpers, der eine Ringelung im Abstand von 0,6 bis 0,7 µm zeigt, bildet die etwa 80 nm dicke Kutikula (Abb. 17). An ihr sind von innen nach außen eine granuläre innere Schicht gefolgt von einer sehr lichten mittleren Schicht und als Abschluß eine elektronendichte äußere Schicht, der eine membranartige Struktur vorausgeht, zu unterscheiden (Abb. 16). Der nächste Bestandteil der Körperwand ist die sehr schmale, stellenweise kaum erkennbare Hypodermis, die bereits vier Leisten ausbildet, in denen Axonbündel eingeschlossen sind. Die Längsmuskulatur als dritte Schicht des Hautmuskelschlauches besteht erst aus wenigen Zellen. Das Nervensystem ist weitgehend ausgebildet; im vorderen Bereich befindet sich ein Nervenring, von dem aus die Axone in die Peripherie entspringen. Die Sinnesorgane sind zum Teil bereits vorhanden; die Abbildungen 16 und 17 zeigen die beiden rostral gelegenen Amphiden. Deutlich zu erkennen sind die typischen Zilienbündel, die zahlreiche Mikrotubuli enthalten. Ein durchgängiger Verdauungstrakt ist

noch nicht zu erkennen, ebenso ist eine Geschlechtsdifferenzierung noch unmöglich. Exkretionsorgane sind jedoch schon vorhanden: Abbildung 21 zeigt einen Analporus. Die nicht exakt im Zentrum getroffene Zelle nimmt normalerweise mehr als ein Drittel des Larvenquerschnittes an Fläche ein. Es lassen sich zwei Bereiche unterscheiden: zentral befinden sich zahlreiche Membranstapel und Vesikel, peripher scheint das zu sezernierende Material gesammelt zu werden. Auf Grund der exzentrischen Schnittführung ist die Austrittsöffnung nur ansatzweise durch das Auseinanderweichen der Hypodermis zu erkennen. Als weiteres Exkretionsorgan ist auf Abbildung 27 eine Renette zu sehen. Im übrigen wird das Bild von relativ undifferenzierten, embryonalen Zellen beherrscht.

4.2. Organbefall unter natürlichen Bedingungen und unter Therapie mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat

4.2.1. Zentralnervensystem

Bei der histologischen Untersuchung der Palliumproben konnten Wurmlarven stets nur innerhalb der Gefäßlumina nachgewiesen werden. Eine Penetration in die Umgebung trat in keinem Präparat auf. Auch die eingehenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen erbrachten lediglich eine Bestätigung der lichtmikroskopischen Beobachtungen (Abb. 18). Es

fanden sich ausschließlich in den Hirnproben unbehandelter Tiere Mikrofilarien; die Proben der beiden jeweils mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat behandelten Tiere waren frei von Larven.

4.2.2. Retikuloendotheliales System

Neben Gewebeproben aus der Milz wurden stichprobenartig einzelne mesenteriale Lymphknoten von behandelten und unbehandelten Tieren entnommen und nach entsprechender Präparation licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

1. Milz: In der Milz konnten nur relativ selten Wurmlarven nachgewiesen werden; jedoch wurden sowohl bei unbehandelten als auch bei mit Filariziden behandelten Tieren Larven gefunden. Anzeichen für eine Schädigung der Mikrofilarien durch die hier natürlicherweise reichlich vorhandenen Abwehrzellen wurden nicht beobachtet (Abb. 19).
2. Abdominale Lymphknoten: Trotz intensiver Suche konnte nur in einem Präparat eines mesenterialen Lymphknotens, der von einem Tier stammte, das mit Diäthylkarbamazin behandelt worden war, eine quergetroffene Wurmlarve beobachtet werden. Abbildung 22 zeigt diese, umflossen von Zytoplasma eines mehrkernigen Phagozyten. In höheren Vergrößerungsstufen ist zu erkennen, daß die Mikrofilarie bereits deutliche Zeichen einer Schädigung aufweist. Die Kutikula ist verbreitert und wirkt wie in Auflösung begriffen; die Zellkerne

und das Zytoplasma zeigen eine vermehrte Elektronentransparenz; Organellen sind nur noch spärlich vorhanden.

4.2.3. Parenchymatöse Organe

1. Niere: Bei der Präparation und Einbettung der Nierenparenchymproben wurde darauf geachtet, daß sowohl Proben aus der Rinde als auch aus dem Mark zur Untersuchung gelangten. Dabei fanden sich ausnahmslos innerhalb der Kapillarlumina Mikrofilarien. Ein Verlassen der Kapillaren und ein Eindringen in den Zwischenzellraum oder in die Zellen wurde auch unter Therapie mit Filariziden nicht beobachtet. Verschiedentlich ergab die lichtmikroskopische Untersuchung den Verdacht auf einen Larvenaufenthalt im Tubuluslumen; hier zeigte jedoch die elektronenmikroskopische Kontrolle, daß es sich auch in diesen Fällen ohne Ausnahme um blutführende Kapillaren handelte (Abb. 20).
2. Lunge: Unter allen Autoren herrscht Übereinstimmung darüber, daß sich die Mikrofilarien von Dipetalonema witei bei natürlicher Infektion bevorzugt im Lungengewebe aufhalten. Demnach war hier mit den höchsten Larvenkonzentrationen zu rechnen, weshalb der Untersuchung dieses Organs besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Die entnommenen Proben entstammten sämtlich peripheren Organbezirken. Abbildung 25 gibt einen Eindruck vom Invasionsgrad des Gewe-

bes durch die Wurmlarven. Auf einer Fläche von 7 mal 16 µm befinden sich immerhin drei quergeschnittene Wurmlarven, welche alle innerhalb der Kapillarlumina gelegen sind. Die Larven beschränken sich jedoch nicht nur auf den Gefäßraum, sondern penetrieren in die Umgebung, wobei sie zwangsläufig in den Alveolarraum gelangen (Abb. 23). Ein interstitielles oder intrazelluläres Vorkommen der Larven wurde nicht beobachtet, auch ergaben sich keine Hinweise auf eine Abwehrreaktion von Seiten des wirtseigenen retikuloendothelialen Systems. Dagegen traten massive Veränderungen an den Mikrofilarien unter Therapie mit Metrifonat und etwas weniger unter Diäthylkarbamazin auf (Abb. 24 und 26). (Zur Morphologie der unbehandelten Larven s. Kapitel 4.1.8.: Morphologie der Mikrofilarien.): Die Larvenkutikula war insgesamt verbreitert, stellenweise war die äußere Schicht völlig abgehoben. Die Zellen wirkten geschwollen, das Zytoplasma bestand nur noch aus lichtem, granulärem Material. Zellorganellen waren nur spärlich vorhanden, vereinzelt fanden sich atypisch konfigurierte Mitochondrien, die Kerne zeigten Auflösungserscheinungen. Bei den Larven, die unter der Einwirkung von Metrifonat gestanden hatten, waren neben Zellen mit extrem elektronenlichtem Zytoplasma auch sehr elektronendichte Zellen zu beobachten, deren Plasma nur einen geringen Kontrast gegenüber dem Zellkern bot (Abb. 26).

3. Leber: Bei unbehandelten wie bei behandelten M.natalensis waren in großer Anzahl Mikrofilarien in der Leber anzutreffen. Im Falle der un-

behandelten Tiere beschränkte sich ihr Aufenthalt in der Regel auf die Sinusoide und die zuführenden und ableitenden Gefäße. Gelegentlich penetrierten sie jedoch die Gefäßwände und gelangten in den Interzellularraum der Hepatozyten und der periportalen Felder. Dabei waren keine Anzeichen für eine Reaktion des wirtseigenen Abwehrsystems (Kupffersche Sternzellen) auf die Larven festzustellen. Unter Therapie mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat zeigten die Larven jedoch alle Zeichen der Schädigung und der Degeneration, wie sie schon im Abschnitt 2. Lunge beschrieben wurden. Einzelne Larven durchbrachen die Plasmalemmata von Hepatozyten und drangen in das Zytoplasma vor (Abb. 27, 28). Dabei war auffällig, daß diese Larven im Vergleich zu den intravasal und interstitiell gelegenen weniger oder sogar keine Zeichen einer Schädigung durch das Therapeutikum aufwiesen. Ebenso waren bei den betroffenen Hepatozyten zumindest zu diesem Zeitpunkt (etwa 36 Stunden nach Therapiebeginn) Läsionszeichen nicht offensichtlich.

4.2.4. Muskulatur

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich wurden Gewebeproben aus der Oberschenkelmuskulatur, dem muskulären Anteil des Zwerchfells und dem Herzen entnommen; bei letzterem wurde ausschließlich die Wand des linken Ventrikels zur Probenentnahme herangezogen.

1. Oberschenkelmuskulatur: Es gelang zwar, lichtmikroskopisch Mikrofilarien in der Oberschenkelmuskulatur sicher nachzuweisen, doch fanden sie sich hier sehr selten. Stets beschränkten sie sich auf den Intravasalraum, unabhängig davon, ob eine Therapie durchgeführt worden war oder nicht.
2. Zwerchfell: In der Zwerchfellmuskulatur unbehandelter Tiere waren Mikrofilarien sehr häufig anzutreffen, wobei sie sich auch hier in der Regel auf den Intravasalraum bzw. den interstitiellen Raum beschränkten (Abb. 29). Wie in den vorher besprochenen Geweben gab es auch hier keinerlei Anzeichen für eine Abwehrreaktion des Wirtes mit Schädigung der Larven; ebenso war das Wirtsgewebe frei von pathologischen Veränderungen, die auf eine Einwirkung der Larven hätten schließen lassen. Unter Therapie mit filariziden Substanzen waren die Larven wieder von zahlreichen Läsionen betroffen, die sich von den bereits an anderer Stelle beschriebenen nicht unterschieden (s. Abschnitt 2. Lunge). Auch hier wurden vereinzelt Mikrofilarien beobachtet, die die Zellmembrangrenze überschritten und sich einen Weg durch die Muskelfibrillen bahnten, wobei die Fibrillenarchitektur teilweise zerstört wurde. Ebenso waren die Mikrofilarien im Vergleich zu den extrazellulär gelegenen weniger oder gar nicht von den beschriebenen therapieinduzierten Veränderungen betroffen (Abb. 30).
3. Herzmuskulatur: In der Muskulatur des linken Ventrikels waren ebenfalls in großer Anzahl Wurmlarven zu beobachten. Sie hielten sich aus-

schließlich im interstitiellen oder intravasalen Raum auf, Abwehrreaktionen des Wirtes fehlten. Unter Therapie zeigten alle extrazellulären Larven deutliche Degenerationszeichen. Wie im Zwerchfell und in der Leber penetrierten auch hier einige Mikrofilarien die Zellmembranen, um in das Zytoplasma einzudringen (Abb. 31). Dabei stellten die Myofibrillen kein Hindernis für das Vordringen der Larven dar, vielmehr wurden die Aktin-Myosin-Komplexe zum Teil auseinandergerissen und zerstört. Es konnte erneut beobachtet werden, daß die intrazellulär gelegenen Larven weitgehend von den Wirkungen des jeweiligen Therapeutikums verschont blieben.

4.2.5. Subkutis

Es sollte untersucht werden, ob sich die Mikrofilarien im Bereich der Kutis ausschließlich intravasal aufhalten und daher erst nach Läsion der Kapillarwände durch die Mundwerkzeuge des Zwischenwirtes mit anschließender Blutung in das umgebende Gewebe gelangen, oder ob sie auch hier das Gefäßlumen aktiv verlassen.

Dazu wurde die Kutis des Abdomens bis zur Axillarlinie im subkutanen Fettgewebe abpräpariert. Anschließend wurden stichprobenartig in verschiedenen Arealen Gewebeproben entnommen und für die Elektronenmikroskopie vorbereitet. Bei den folgenden Untersuchungen waren Wurmlarven nur innerhalb der Kapillarlumina anzutreffen. Es fielauf, daß die Kutis im

Vergleich zu den untersuchten inneren Organen, die für den Zwischenwirt bekanntlich nicht zu erreichen sind, eher spärlich mit Mikrofilarien durchsetzt war.

4.3. Augenbefall unter natürlichen Bedingungen und unter Therapie mit Diäthylkarbamazin und Metrifonat

4.3.1. Vorderer Augenabschnitt

Die Kornea, die Iris, der Kammerwinkel und der Ziliarkörper wurden histologisch untersucht (Präparationstechnik s. Kap. 3.1.1.). Der Vorderkammerraum war einer Untersuchung aus präparationstechnischen Gründen nicht zugänglich. Einzelne Präparate wurden zusätzlich elektronenmikroskopisch untersucht, da es gelegentlich schwierig war, allein auf Grund der lichtmikroskopischen Beobachtung zwischen den dicht gelagerten Pigmentgranula von Iris und Ziliarkörper die Anwesenheit quergetroffener Mikrofilarien sicher auszuschließen. Alle diese Untersuchungen führten im Bereich des vorderen Augenabschnittes nicht zum Nachweis von Mikrofilarien. Ebenfalls wurden keine

---

In den in der HNO-Klinik untersuchten Endo- und Perilymphräumen des Innenohres wurde der Nachweis von Mikrofilarien in keinem Fall erbracht.

pathologischen Veränderungen gefunden, die auf die Einwirkungen von Mikrofilarien hätten schließen lassen können. Zur Dokumentation der durchgeführten Untersuchungen im Bereich des vorderen Augenabschnittes soll die Abbildung 32 dienen. Sie zeigt einen Ausschnitt aus dem Bereich der Iriswurzel mit kammerwasserführenden Gefäßen. Deutlich ist eine endothelartige Auskleidung dieses Gefäßes zu erkennen, die im Unterschied zum Endothel blutführender Kapillaren eine hohe Elektronendichte aufweist. Zellgrenzen sind nicht zu erkennen, das Zytoplasma enthält zahlreiche Mitochondrien. Eine feine Membran bildet zum Gefäßlumen einen Abschluß. Dieser wird von trabekelartigen Zellfortsätzen überbrückt. Im übrigen beherrschen Pigmentzellen das Bild, deren Zytoplasma dicht von Pigmentgranula durchsetzt ist.

4.3.2. Hinterer Augenabschnitt

Die Verbreitung der Mikrofilarien von Dipetalonema witei erfolgt im Wirt über den Blutkreislauf. Auf diesem Weg ereichen sie auch das Kapillarnetz der Haut, von wo sie in ihren Zwischenwirt aufgenommen werden können. Ebenso erfolgt die Verschleppung der Larven in alle übrigen an die Blutversorgung angeschlossenen Organe und Gewebe des Wirtes. Im Hinblick auf den hinteren Augenabschnitt kommen daher die Arteria centralis retinae und die kurzen Ziliararterien als Eintrittspforten in Betracht. Dieser Tatsache wurde bei licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit

dadurch Rechnung getragen, daß auf die Beobachtung der oberflächlichen, retinalen Gefäße und des uvealen Kapillarnetzes besonderes Augenmerk gelegt wurde. Die Abbildungen 34 und 35 vermitteln einen Überblick über sämtliche Schichten der Bulbuswand von M.natalensis. Auf die gefäßarme, aus Fibrozyten und Kollagenfaserbündeln bestehende Tunica fibrosa folgt die an Pigmentzellen und Kapillaren reiche Tunica vasculosa. Die Grenze zur Tunica nervosa bildet die Lamina vitrea basalis (Bruch'sche Membran), gefolgt vom einschichtigen Stratum pigmenti retinae, dessen Zellen ärmer an Pigmentgranula sind als die der Iris oder der Chorioidea. Zwischen die Ausläufer der Pigmentzellen tauchen die Spitzen der Stäbchen des Stratum neuroepitheliale ein. Deutlich ist die lamelläre Struktur des das Sehpigment enthaltenen Zellanteils zu erkennen, der gegen einen mitochondrialen Anteil abgesetzt ist (Abb. 35 und 36). Die Grenze zum die Kerne der Sinneszellen enthaltenden Stratum granulosum externum bildet die Membrana limitans externa, die bei M.natalensis lediglich durch den abrupten Übergang zwischen dem Stratum neuroepitheliale und dem Stratum granulosum externum zu lokalisieren ist. Es folgt das kernfreie Stratum plexiforme externum, das vereinzelt Kapillaren enthält (Abb. 38). Diesem schließt sich das Stratum granulosum internum an, welches aus großen, plumpen Zellen mit elektronenlichten Kernen und wenig strukturiertem Zytoplasma, und aus etwas kleineren, organellreichen Zellen mit elektronendichtem Kern besteht. Das darauf folgende Stratum plexiforme internum enthält keine Zellkerne und geht über in das Stratum ganglionare, dessen zelluläre Komponenten

die namengebenden Ganglienzellen sind. Diese sind von den zentripetalen Fasern des Nervus opticus umgeben. Im Niveau der Netzhaut liegen die von der Zentralarterie gespeisten Kapillaren. Den Abschluß gegen den Glaskörper bildet die Lamina limitans interna.

Ein Mikrofilariennachweis in retinalen Gefäßen gelang im Rahmen dieser Arbeit zweimal. Die Abbildungen 33 und 34 zeigen zwei quergetroffene Wurmlarven in Kapillaren der Netzhaut in Papillennähe eines unbehandelten Exemplars von M.natalensis. Die wenigen Kapillaren des Stratum plexiforme externum waren ohne Ausnahme frei von Mikrofilarien. Eine Auswanderung von Mikrofilarien aus dem Gefäßlumen zwischen die zellulären Elemente der Netzhaut wurde weder bei behandelten noch bei unbehandelten Tieren beobachtet. In der reich kapillarisierten Chorioidea fanden sich in fast jedem Präparat Larven, die sich jedoch in der Regel innerhalb der Kapillarlumina aufhielten. Vereinzelt konnte beobachtet werden, daß die Mikrofilarien die Lumina der betroffenen Kapillaren völlig verlegten, so daß eine Perfusion des betroffenen Areals beeinträchtigt schien. Abbildung 39 zeigt zwei Larven in zwei chorioidalen Gefäßen. Selten fanden sich dagegen Larven außerhalb des Lumens zwischen den Pigment- und Bindegewebszellen. Abbildung 37 zeigt eine quergetroffene Mikrofilarie, die sich im Interzellularraum aufhält, wo sie sich scheinbar in Richtung Retina orientiert.

Die Untersuchungen der Sehnerven erstreckten sich auf den Bereich der Papille mit den Zinn'schen Ge-

fäßkranz und den Nervenstamm mit den zentripetalen Axonen. Dabei gelang in den papillarnahen Gefäßen wiederholt ein Larvennachweis. Der Nervenstamm und seine Hüllen waren stets frei von Larven.

4.4. Experimentelle Übertragung verschiedener Larvenstadien auf Kaninchenaugen

4.4.1. Inokulation von Mikrofilarien (L_1-Larven)

Die Dosis der zur Inokulation gelangten Suspension betrug bei allen Tieren 0,3 ml, was etwa einer Anzahl von 41.000 Mikrofilarien entsprach.

4.4.1.1. Subkonjunktivale Inokulation

Eine subkonjunktivale Inokulation von Mikrofilarien wurde an zwei Tieren vorgenommen. Als lokale Reaktion zeigte sich beim ersten Tier (Nr. 1) am folgenden Tag eine konjunktivale Injektion, die jedoch innerhalb von vier Tagen wieder vollständig zurückging. Danach war für die restliche Dauer des Versuches kein pathologischer Befund mehr nachweisbar. Der Allgemeinzustand des Tieres zeigte ebenfalls während der gesamten Versuchsdauer keine Auffälligkeiten. Es nahm weiterhin Nahrung an, so daß es zu Versuchsende eine Gewichtszunahme von 530 g aufwies.

Lediglich in der 20. Woche post inoculationem (p.i.) wurde eine antibiotische Therapie von Seiten des Tierarztes wegen einer epidemisch aufgetretenen Infektionskrankheit erforderlich.

Das zweite Tier (Nr. 2) reagierte nach vier Tagen lokal neben einer gemischten Injektion mit einer Entrundung der Pupille, die sich jedoch binnen kurzer Zeit wieder vollständig zurückbildete und für die restliche Versuchsdauer nicht mehr nachweisbar war. Auch dieses Tier nahm die angebotene Nahrung regelmäßig an und hatte zu Versuchsende 180 g zugenommen. Auch hier mußte der Tierarzt in der 20. Woche p.i. wegen besagter Infektionserkrankung antibiotisch intervenieren. Beide Tiere wurden in der 38. Woche p.i. durch Genickschlag getötet und zur Entnahme von Organproben seziert.

Von beiden Tieren wurden Proben aus der Konjunktiva, den Lymphknoten der gleichseitigen zervikalen Abflußwege, sowie Organproben aus Herz, Lunge, Zwerchfell , Milz und Niere entnommen und mit dem Lichtmikroskop sorgfältig auf das Vorkommen von Mikrofilarien oder pathologischen Veränderungen, speziell entzündlicher Genese, untersucht. Zur Färbung der dazu angefertigten Semidünnschnitte wurde die bereits erwähnte Lösung von Azur II und Methylenblau in Borax verwendet. Bei beiden Tieren fand sich eine regelrechte Konjunktiva mit unauffälliger Gewebearchitektur und ohne Zeichen einer Entzündung. In den Lymphknoten wurden bei der lichtmikroskopischen Betrachtung mikrofilarienverdächtige Strukturen beobachtet, die sich jedoch bei elektronen-

mikroskopischer Kontrolle als atypisch konfigurierte, mehrkernige Makrophagen erwiesen. Auch bei der Untersuchung der übrigen Organe fand sich kein Anhalt für das Vorhandensein von Mikrofilarien.

4.4.1.2. Inokulation in die Vorderkammer

Eine Mikrofilarieninokulation in die Vorderkammer des rechten Auges wurde bei zwei weiteren Tieren durchgeführt. Das erste Tier (Nr. 3) reagierte schon am folgenden Tag mit einer heftigen Entzündung , die sich in einem ausgeprägten Ödem des Ober- und Unterlides äußerte. Ferner fand sich neben einer starken Chemosis eine ziliare Injektion und eine deutlich getrübte Vorderkammer. Das Tier reagierte lichtempfindlich und verweigerte jegliche Nahrungsaufnahme. Am 5. Tag p.i. war eine Quellung der Hornhaut zu beobachten, die Trübung der Vorderkammer hatte zugenommen und bot nun einen milchigen Aspekt. Die Pupille reagierte nicht auf Licht. Limbus und Sklera waren hyperämisch. Am 8. Tag p.i. begannen bei sonst unverändertem Zustand einzelne Gefäße oberflächlich von peripher 5^{oo} Uhr in die Hornhaut einzuwachsen. Vom 14. Tag p.i. an hatte die Pupille durch zirkuläre hintere Synechien ihre runde Form eingebüßt, der Fundus war nicht mehr einsehbar. In der folgenden Zeit klangen die Zeichen der akuten Entzündung allmählich ab und auch der Allgemeinzustand des Tieres normalisierte sich zusehends. Es nahm bis zum Zeitpunkt der Sektion 370 g an Gewicht zu. Das Auge war zu diesem

Zeitpunkt wieder reizfrei. Die Hornhaut war glatt und spiegelnd. Die Pupille war nach wie vor durch zirkuläre hintere Synechien, die durch Mydriatika nicht zu lösen waren, nach 11^{00} Uhr verzogen, wobei sich jedoch palpatorisch kein Druckunterschied zur gesunden Seite feststellen ließ. Dieser Zustand veränderte sich im weiteren Verlauf nicht. Lediglich in der 40. Woche p.i. verordnete der zuständige Tierarzt eine antibiotische Therapie wegen einer nicht das Auge betreffenden allgemeinen Infektionserkrankung. Das Tier wurde in der 44. Woche p.i. durch Genickschlag getötet und seziert.

Für die histologische Untersuchung wurden Proben von Kornea und Iris im Bereich des Kammerwinkels, Teile des Ziliarkörpers und des Glaskörpers entnommen. Dabei ergab sich bei Betrachtung der drei erstgenannten Strukturen kein pathologischer Befund. Für einen Befall mit Mikrofilarien fand sich ebenfalls kein Anhalt. Der Glaskörper zeigte, soweit die Färbemethode eine solche Beurteilung zuließ, eine Anhäufung von nekrotischem Material und Zelldetritus, reichlich durchsetzt von Granulozyten und Makrophagen. Ein Hinweis auf das Vorhandensein von Mikrofilarien ergab sich auch hier nicht. Bei der Untersuchung der gleichseitigen Halslymphknoten schloß auch hier die elektronenmikroskopische Beobachtung das Vorhandensein von Mikrofilarien aus. Mit ebenfalls negativem Ergebnis im Hinblick auf einen Nachweis von Mikrofilarien verlief die Untersuchung der übrigen Organproben.

Das zweite Tier (Nr. 4) zeigte zunächst eine etwas

geringere Reaktion auf die Inokulation. Außer einer Injektion der Konjunktiva und Sklera konnte an den folgenden Tagen zunächst kein weiterer pathologischer Befund am Auge erhoben werden. In der 1. Woche p.i. stellte sich eine leichte Trübung der Vorderkammer ein, die jedoch nur zwei Tage anhielt und sich wieder vollständig zurückbildete. Die Pupille war rund und spielte. In der 3. Woche p.i. trat plötzlich eine heftige Konjunktivitis auf, zu der sich in der 4. Woche p.i. eine Iridozyklitis mit hinteren Synechien und eine Linsentrübung hinzugesellten. Abbildung 40 zeigt den Befund zu diesem Zeitpunkt nach teilweiser Sprengung der Synechien mittels eines Mydriatikums. Als Nebenbefund trat in der 6. Woche p.i. eine subkutane Schwellung an der linken Halsseite auf, die in der 8. Woche p.i. vom Tierarzt inzidiert und antibiotisch gespült wurde. Bei der Inzision entleerten sich reichlich weiße, talgartige Massen, die als Abszeßinhalt interpretiert wurden. In der 12. Woche p.i. rezidivierte der Abszeß, während zur gleichen Zeit am rechten Auge ein entzündliches Geschehen mit Chemosis, Konjunktivitis und Trübung der Kornea einsetzte. In der 13. Woche p.i. stellten sich bei 12^{00} Uhr vordere Synechien ein. In den folgenden Tagen wurde die Vorderkammer zusehends flacher; palpatorisch war gegenüber der Gegenseite eine erhöhte Tensio feststellbar. Gleichzeitig bestand eine deutliche gemischte Injektion mit peripher diskret vaskularisierter Kornea. Die Linse war weißlich trüb und gestattete keinen Einblick in den Fundus. Der Allgemeinzustand des Tieres war in den folgenden Wochen deutlich reduziert, es wirkte apathisch und verweigerte jegliche

Nahrungsaufnahme. In der 17. Woche p.i. hatte es 20 g gegenüber dem Anfangsgewicht verloren. In der 21. Woche stellte sich ein erneutes Abszeßrezidiv an der linken Halsseite ein. Der Befund am Auge hatte inzwischen den Charakter der akuten Entzündung verloren. Die Iris lag fast vollständig der Hornhauthinterfläche an. Ein Irissaum war nicht mehr erkennbar, die Linse war dicht weiß getrübt. Abbildung 41 zeigt den Befund zwei Wochen vor der Sektion. In der 24. Woche p.i. wurde das Tier durch Genickschlag getötet und zur Probenentnahme seziert.

Bei der makroskopischen Untersuchung des Auges war die Iris vollständig mit der Hornhaut verklebt. Bei dem Versuch, beide Strukturen zu trennen, ließen sich nur brüchige Lamellen isolieren, die jedoch eine Zugehörigkeit zum einen oder anderen Organteil nicht erkennen ließen. Die Linse war milchig trüb und von sehr harter Konsistenz, stellenweise war sie bröckelig zerfallen. Der Glaskörper war stark verflüssigt. Insgesamt wirkte der Bulbus gegenüber der Gegenseite im Sinne einer Phthisis bulbi verkleinert.
Für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden Teile der Kornea, der Iris, des Ziliarkörpers und der Linse entnommen und in Glutaraldehydlösung fixiert. Die Hornhaut war in den untersuchten Proben unauffällig, es waren keine pathologischen Pigmenteinlagerungen oder Gefäßneubildungen zu beobachten. Der Ziliarkörper war dagegen dicht mit Leukozyten durchsetzt, Mikrofilarien konnten jedoch nicht nachgewiesen werden. Einen auffälligen Befund bot dagegen die Linse: während auf

einzelnen Schnitten die Linsenstruktur noch relativ intakt war, erwies sie sich auf anderen Schnitten bis in kleinste kristallähnliche Teilchen aufgesplittert. Zwischen diesen Fragmenten fanden sich ebenfalls reichlich Granulozyten und Makrophagen. Mikrofilarien konnten jedoch auch hier nicht nachgewiesen werden. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung der Lymphknoten des gleichseitigen Abflußgebietes erbrachte ebenfalls keinen Anhalt für das Vorhandensein von Mikrofilarien. Die histologische Untersuchung der übrigen Organe wie Herz, Lunge, Zwerchfell, Niere und Milz führte im Hinblick auf einen Nachweis von Mikrofilarien zu keinem positiven Ergebnis.

4.4.1.3. Inokulation in den Glaskörper

Insgesamt drei Tieren wurde mikrofilarienhaltige Ringerlösung in den Glaskörper des rechten Auges appliziert.
Das erste Tier (Nr. 5) zeigte an den auf die Inokulation folgenden Tagen eine Konjunktivitis am betroffenen Auge, die jedoch innerhalb einer Woche völlig abklang. Ansonsten zeigte das Auge keine pathologischen Reaktionen. Auch der Allgemeinzustand des Tieres blieb unauffällig. Es verhielt sich normal und nahm stetig an Gewicht zu. Erst in der 13. Woche p.i. konnten bei eingehender Spiegelung des Augenhintergrundes neben diskreten Trübungen des Glaskörpers vereinzelte Schlieren beobachtet werden, jedoch traten keinerlei weitere Verände-

rungen hinzu. In der 20. Woche p.i. wurde wegen einer allgemeinen Infektion eine antibiotische Therapie erforderlich, die das Tier gut vertrug. In der 55. Woche p.i. wurde das Tier getötet und zur Entnahme von Organproben seziert.

Das zweite Tier (Nr. 6) zeigte an dem auf die Inokulation folgenden Tag eine heftige Entzündung aller Augenabschnitte mit einer ödematösen Schwellung der Lider, einer Chemosis und einer gemischten Injektion. Die Vorderkammer zeigte bei schräg einfallendem Licht eine deutlich Opaleszenz. Am 5. Tag p.i. war die Hornhaut ödematös gequollen, die Sklera zeigte bis zum Limbus eine deutliche Hyperämie. Die Trübung der Vorderkammer hatte erheblich zugenommen. Der Fundus war nur schemenhaft einsehbar. Am 7. Tag p.i. verstarb das Tier.

Als Ursache wurde bei der durch den Tierarzt veranlaßten Sektion eine Magenperforation festgestellt, die zu einer starken Blutung in die Bauchhöhle sowie zu einer ausgedehnten Peritonitis mit starken Verwachsungen der Darmschlingen geführt hatte.

Das dritte Tier (Nr. 7) reagierte ebenfalls mit einer heftigen Entzündung des gesamten Auges. Am 2. Tag p.i. waren die Lider ödematös geschwollen, leicht ektropioniert und eitrig verklebt. Konjunktiva und Sklera waren injiziert. Die Vorderkammer zeigte eine ausgeprägte Trübung und gestattete keinen Einblick in tiefere Augenabschnitte. In der 1. Woche p.i. nahm die Eiterung im Bereich der Lider zu. Es trat ein leichter Exophthalmus auf und von peripher setzte eine oberflächliche und tiefe Vas-

kularisation der Kornea ein. Abbildung 42 zeigt den Lokalbefund in der dritten Woche p.i.. Das Ödem war im Bereich der Lider und der Konjunktiva nicht mehr nachweisbar. Die Hornhaut zeigte eine oberflächliche und tiefe bis zum Zentrum reichende Vaskularisation. Die Vorderkammer war nicht sicher beurteilbar. Iris, Pupille und hinterer Augenabschnitt waren ebenfalls nur schemenhaft beurteilbar. Deutlich war jedoch die graue Trübung des Glaskörpers zu erkennen als Zeichen einer Panophthalmitis. Im weiteren Verlauf kam es zur Bildung von hinteren Synechien, die nur teilweise zu sprengen waren. Der entzündliche Exophthalmus ging allmählich zurück. Durch die schließlich entstandene Seclusio pupillae wurde die Vorderkammer zusehends flacher. In der 12. Woche p.i. lag die Iris der Hornhauthinterfläche völlig an, gleichzeitig war die Tensio palpatorisch gegenüber der Gegenseite deutlich erhöht. In der 20. Woche p.i. wurde auch bei diesem Tier eine antibiotische Therapie vom zuständigen Tierarzt durchgeführt wegen einer nicht das Auge betreffenden Allgemeininfektion. In der Folgezeit gingen die Zeichen der akuten Entzündung am Auge zurück und es setzte eine allmähliche Verkleinerung des Bulbus ein. Der Allgemeinzustand des Tieres verbesserte sich, es nahm schließlich wieder in ausreichender Menge Nahrung an und verzeichnete zum Versuchsende immerhin noch einen Gewichtszuwachs von 220 g. In der 48. Woche starb auch dieses Tier an einer Magenperforation. Eine Probenentnahme wurde hier nicht durchgeführt, da sich das Gewebe vom Zeitpunkt des Todes bis zur möglichen Sektion zu lange in unfixierten Zustand befunden hatte.

Die Bulbi der Tiere Nr. 5 und Nr. 6 zeigten bei der Öffnung einen stark verflüssigten Glaskörper. Zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung wurde die Bulbuswand mit allen Schichten präpariert und in Glutaraldehydlösung für die Elektronenmikroskopie fixiert. Bei Tier Nr. 5 ergab die histologische Untersuchung von Retina, Chorioidea und Sklera keinen auffälligen Befund. Die Gewebearchitektur war unauffällig; es ergab sich kein Hinweis auf einen entzündlichen Prozeß oder das Vorhandensein von Mikrofilarien. Die verdächtigen Lymphknoten wurden einer elektronenmikroskopischen Untersuchung unterworfen, was jedoch auch in diesem Fall zu keinem Nachweis von Mikrofilarien führte. Wie bereits erwähnt verstarb das Tier Nr. 6 schon sieben Tage nach Versuchsbeginn an einer Magenperforation. Die Wahrscheinlichkeit, bei der mikroskopischen Untersuchung des Auges auf Wurmlarven zu stoßen, war hier im Vergleich zu den übrigen Tieren am größten. Neben Proben aus der Bulbuswand wurden Proben aus der Iris und dem Ziliarkörper entnommen und für die Licht- und Elektronenmikroskopie präpariert. Schon bei der lichtmikroskopischen Untersuchung zeigte sich, daß Iris, Ziliarkörper und alle Schichten der Bulbuswand dicht von Granulozyten und Makrophagen durchsetzt waren. Auch der Glaskörper enthielt in großer Anzahl weiße Blutzellen, die reichlich von nekrotischem Material umgeben waren. Große Sorgfalt wurde auch auf die elektronenoptischen Untersuchungen verwandt, die zusätzlich solche Präparate einschlossen, die lichtmikroskopisch keinen Anhalt für das Vorhandensein von Wurmlarven ergeben hatten. Dabei wurde jedoch in keinem Fall der Nachweis von Mikrofilarien erbracht, ebensowenig

konnten Larvenfragmente, wie sie nach Einwirkung lytischer Enzyme leukozytären Ursprungs hätten erwartet werden können, nachgewiesen werden. Die Untersuchung der Lymphknotenpräparate und der übrigen Organproben blieb ebenfalls ohne positives Resultat im Hinblick auf einen Larvennachweis.

4.4.2. Inokulation von metazyklischen Larven (L_3-Larven)

4.4.2.1. Subkonjunktivale Inokulation

Die Zahl der inokulierten metazyklischen Larven war erheblich niedriger als die der Mikrofilarien. Es wurden auch hier 0,3 ml Larven enthaltende Ringerlösung appliziert, was einer Anzahl von etwa 500 Larven entsprach. Die Applikationsorte verteilten sich wie folgt: Tier Nr. 8 erhielt je 0,3 ml Suspension in die Epikanthi beider Unterlider. Bei zwei weiteren Tieren wurden je 0,3 ml in die Umschlagfalte zwischen der pars bulbi und der pars palpebrae conjunctivae des linken (Nr. 9) bzw. beider Augen (Nr. 10) injiziert.

Tier Nr. 8 zeigte weder am linken noch am rechten Auge eine Reaktion auf die Larvenapplikation. Die Bindehaut blieb beiderseits reizfrei, die brechenden Medien zeigten keine Trübung. Das Tier verhielt sich völlig normal und nahm in ausreichendem Maße Nahrung auf. Zum Zeitpunkt der Sektion in der 57.

Woche p.i. hatte es 650 g an Gewicht zugenommen. Lediglich in der 20. Woche p.i. wurde wegen der schon erwähnten allgemeinen Infektion eine antibiotische Therapie erforderlich.

Tier Nr. 9, bei dem eine subkonjunktivale Injektion erfolgt war, blieb in den ersten Tagen und Wochen ebenfalls ohne pathologische Veränderungen am linken Auge. Auch hier blieben Konjunktiva und Sklera reizfrei, die brechenden Medien blieben klar. Da bei diesem Tier am rechten Auge außerdem eine Inokulation von Larven in den Glaskörper des rechten Auges durchgeführt worden war, wird der allgemeine und spezielle klinische Verlauf an anderer Stelle noch ausführlich behandelt.

Bei Tier Nr. 10 wurden metazyklische Larven beiderseits subkonjunktival appliziert. In den ersten sechs Tagen p.i. war an beiden Augen keine pathologische Veränderung zu beobachten. Erst am 7. Tag p.i. fand sich rechts eine heftige Konjunktivitis mit ausgeprägter Hyperämie der konjunktivalen Gefäße und starkem Tränenfluß. In den folgenden Tagen klangen die akut entzündlichen Symptome allmählich ab, so daß am Ende der zweiten Woche p.i. beide Augen völlig reizfrei waren. Der Allgemeinzustand des Tieres blieb ebenfalls unauffällig. In der 22. Woche p.i. wurde auch bei diesem Tier wegen einer nicht die Augen betreffenden infektiösen Erkrankung eine antibiotische Therapie durchgeführt. Das Tier wurde in der 58. Woche p.i. durch Genickschlag getötet und zur Entnahme von Organproben seziert.

Da bei diesen Tieren mit der Möglichkeit einer Weiterentwicklung der metazyklischen Larven zu adulten Filarien gerechnet werden mußte, wurden neben den Proben aus dem betroffenen Augenabschnitt und der entsprechenden Lymphabflußbahn die Proben von Lunge, Herz, Zwerchfell, Milz, Niere und Leber auf das Auftreten von Mikrofilarien untersucht. Ferner wurde bei der Sektion die Subkutis als natürlicher Aufenthaltsort der adulten Filarien sorgfältig präpariert, verdächtige Knoten entnommen und diese histologisch untersucht. Bei allen drei Tieren führten diese Untersuchungen nicht zu positiven Ergebnissen. Die untersuchten Proben aus dem Unterlid, dem Konjunktivalsack und der Hornhaut zeigten eine normale Gewebestruktur ohne entzündliche oder andere pathologischen Veränderungen und ohne den Nachweis von Wurmlarven. Die lichtmikroskopisch scheinbar positiven Lymphknoten wurden auch hier wieder einer elektronenmikroskopischen Kontrolle unterzogen, was jedoch zu keinem Nachweis von Larvenstrukturen führte. Ebenso negativ verlief die Untersuchung der übrigen Organproben.

4.4.2.2. Inokulation in die Vorderkammer

Bei zwei Tieren wurde eine Applikation von metazyklischen Larven in die Vorderkammer durchgeführt.

Das erste Tier (Nr. 11) reagierte schon am folgenden Tag mit einer heftigen Entzündung des Auges. Konjunktiva und Sklera waren injiziert, die Vorderkammer

zeigte im schräg einfallenden Licht eine mäßig ausgeprägte Trübung. Am 5. Tag p.i. war die Pupille oval verzogen, reagierte jedoch noch auf Licht. Die Vorderkammertrübung war geringgradig zurückgegangen. Das Tier war jedoch nach wie vor sehr lichtscheu. Am 7. Tag p.i. war kein Pupillenspiel mehr auslösbar. In der 2. Woche p.i. war der Irissaum fast vollständig mit der vorderen Linsenkapsel verklebt, zwischen 11^{oo} und 1^{oo} Uhr war er faserig aufgelöst. Die Vorderkammer hatte an Tiefe verloren. Ein Druckunterschied gegenüber der gesunden Seite war jedoch palpatorisch nicht feststellbar. In der 3. Woche p.i. nahm die Trübung der Vorderkammer für einige Tage erneut zu, der Fundus war nicht einsehbar. In den folgenden Wochen gingen die Zeichen der akuten Entzündung zurück, der Zustand der Pupille blieb jedoch unverändert. Von der 20. Woche p.i. setzte von peripher zwischen 4^{oo} und 7^{oo} Uhr eine oberflächliche Vaskularisation der Kornea ein. Im weiteren Verlauf entwickelte sich eine ausgedehnte zentrale Hornhautnarbe; die Linse wurde trüb. Abbildung 43 zeigt den Zustand des Auges in der 34. Woche p.i.. In den folgenden Wochen kamen keine weiteren Veränderungen hinzu. In der 20. und 40. Woche mußte der zuständige Tierarzt auch bei diesem Tier eine antibiotische Therapie wegen einer allgemeinen Infektionskrankheit durchführen. In der 56. Woche p.i. wurde das Tier getötet und seziert. Es hatte bis zu diesem Zeitpunkt 710 g zugenommen.

Das Tier Nr. 12 zeigte an dem auf die Inokulation folgenden Tag ebenfalls eine heftige Entzündung besonders des vorderen Augenabschnittes. Die Gefäße von Konjunktiva und Sklera waren prall gefüllt. Die

Hornhaut war gräulich-trüb und die Vorderkammer zeigte eine deutliche Opaleszenz. Die Pupillenreaktion war jedoch seitengleich und erfolgte prompt. Der Fundus war durch die Veränderungen am vorderen Augenabschnitt nur schemenhaft einsehbar. Bis zum Ende der ersten Woche p.i. blieb dieser Befund konstant. Am 8. Tag p.i. trat ein deutliches Bindehautödem hinzu, der Pupillendurchmesser war gegenüber der Gegenseite verkleinert und die Lichtreaktion erfolgte ein wenig verzögert. Bis zum Ende der 2. Woche p.i. war die Vorderkammertrübung rückläufig, ohne jedoch völlig zu verschwinden. Die Anisokorie war nur noch diskret ausgebildet. Eine verzögerte Lichtreaktion war jedoch unverändert nachweisbar. In der 6. Woche p.i. hatte sich das Auge soweit erholt, daß keine Zeichen der akuten Entzündung mehr bestanden. Die Konjunktiva war nur noch leicht gerötet, die Vorderkammer war optisch leer. Der Fundus war gut einsehbar und zeigte keine Auffälligkeiten. Das Pupillenspiel war wieder beiderseits intakt, jedoch blieb eine leichte ovaläre Verziehung der Pupille nach 22^{00} Uhr. In der 13. Woche p.i. war außer einer peripher gelegenen Einstichnarbe, die von der Larveninokulation herrührte, kein pathologischer Befund am Auge mehr zu erheben. Nach dem Abklingen der akuten Entzündung hatte sich auch der Allgemeinzustand des Tieres soweit normalisiert, daß es wieder in ausreichender Menge Nahrung aufnahm und bis zur Sektion immerhin noch 490 g an Gewicht zunahm. Wie bei den meisten übrigen Tieren wurde auch hier in der 20. und 40. Woche p.i. eine antibiotische Therapie durchgeführt. Das Tier wurde in der 56. Woche p.i. durch Genickschlag ge-

tötet und seziert.

Von beiden Tieren wurden Proben der Konjunktiva, der Kornea und der Iris mit Teilen des Ziliarkörpers entnommen. Beim Aufsuchen der einzelnen Stationen des gleichseitigen zervikalen Lymphabflußweges fanden sich bei Tier Nr. 12 einige gegenüber der gesunden Seite vergrößerte Lymphknoten. Diese wurden entnommen und wie die übrigen Proben einer histologischen Untersuchung zugeführt. Ferner wurde auch bei diesen Tieren die Subkutis einer sorgfältigen Inspektion unterzogen, um nicht eventuell vorhandene adulte Filarien zu übersehen. Alle diese Maßnahmen führten wie auch die histologische Untersuchung von Proben aus Lunge, Herz, Zwerchfell, Leber, Milz und Niere nicht zum Nachweis von Filarien oder deren Larven. Auch eine elektronenmikroskopische Kontrolle verdächtiger Strukturen in den Proben entnommener Halslymphknoten führte zu keinem positiven Ergebnis.

4.4.2.3. Inokulation in den Glaskörper

An drei Tieren wurde eine Inokulation von metazyklischen Larven in den Glaskörper vorgenommen. Beim ersten Tier (Nr. 9) (s. Kap. 4.4.2.1. Subkonjunktivale Inokulation) war am rechten Auge am 2. Tag p.i. eine leichte Opaleszenz der Vorderkammerflüssigkeit bei jedoch erheblichem Tränenfluß zu beobachten. Am 3. Tag p.i. kam eine Schwellung und eine krustige Verklebung der äußeren Lider hinzu.

Gleichzeitig trat eine ausgeprägte gemischte Injektion auf. Am 5. Tag p.i. hatte die Trübung der Vorderkammer so weit zugenommen, daß die Pupillenöffnung nur noch schemenhaft zu erkennen war. Am 8. Tag p.i. war die Iris an mehreren Stellen mit der Linsenvorderfläche verklebt, eine Lichtreaktion war nicht auslösbar. Der Glaskörper erschien bei reduziertem Einblick getrübt. Der Allgemeinzustand des Tieres entsprach dem schweren Befund am Auge. Es wirkte apathisch, verweigerte die Nahrungsaufnahme und reagierte lichtempfindlich. In der 4. Woche p.i. ging die akute Entzündung allmählich zurück, die Hyperämie und das Ödem im Bereich der Lider und der Konjunktiva nahmen ab. Die hinteren Synechien blieben jedoch bestehen und auch der Glaskörper klarte nicht wieder auf. Im weiteren Verlauf flachte die Vorderkammer zunehmend ab, eine Druckdifferenz gegenüber der Gegenseite war jedoch nicht zu palpieren. In der 13. Woche p.i. waren Konjunktiva und Sklera bis auf den Limbusbereich, der noch immer eine diskrete Hyperämie aufwies, reizlos. Die Vorderkammer war peripher abgeflacht, die brechenden Medien waren jedoch klar. Die Pupille zeigte durch hintere Synechien, die mehreren Sprengversuchen widerstanden hatten, eine Verziehung nach 11^{00} Uhr. Der Glaskörper blieb grau-weiß getrübt und gestattete keine Beurteilung des Fundus. In der 20. Woche p.i. wurde auch bei diesem Tier eine antibiotische Therapie durch den zuständigen Tierarzt verordnet. In der Folgezeit setzte eine Verkleinerung des Bulbus im Sinne einer Phthisis ein. Trotz dieser massiven Befunde nahm das Tier ausreichend Nahrung zu sich, so daß es zum Zeitpunkt der Sektion, die in der 58. Woche p.i. stattfand, 600 g an Gewicht zuge-

nommen hatte.

Der Augenbefund des Tieres mit der Nr. 13 zeigte einen milderen Verlauf als bei vergleichbaren Versuchen mit Mikrofilarien zu beobachten war (s. Kap. 4.4.1.3.). Ein entzündliches Ödem im Bereich der Lider und Konjunktiven blieb völlig aus. Die Hyperämie von Kunjunktiva und Sklera war nur geringgradig. Ebenso klang eine anfangs bestehende leichte Vorderkammertrübung sehr schnell ab, auch die brechenden Medien blieben zunächst klar. Die Iris zeigte jedoch zirkulär vereinzelte Verklebungen mit der vorderen Linsenkapsel, die durch Mydriatika deutlicher hervortraten, sich jedoch nicht lösen ließen. Eine Seclusio pupillae trat nicht ein, entsprechend war eine Druckdifferenz zur gesunden Seite nicht palpabel. Der Glaskörper war zunächst klar, trübte jedoch im weiteren Verlauf massiv ein und verwehrte den Einblick in den Fundus. Damit ging eine rapide Verschlechterung des Allgemeinzustandes einher, was sich u.a. darin äußerte, daß das Tier apathisch wirkte, das helle Licht mied und die Nahrungsaufnahme stark reduzierte. In der 13. Woche p.i. war der Glaskörper von dichten, grau-weißen Massen angefüllt. Die hinteren Synechien hatten zugenommen, was eine deutliche Abflachung der Vorderkammer zur Folge hatte. Eine Drucksteigerung war jedoch auch zu diesem Zeitpunkt zumindest palpatorisch nicht feststellbar. In der 20. Woche p.i. wurde auch bei diesem Tier eine antibiotische Therapie durchgeführt. Im weiteren Verlauf erholte sich das Tier so weit, daß es wieder vermehrt Nahrung aufnahm und bis zur Sektion immerhin noch einen Gewichtszuwachs von 520 g verzeichnete. Es wurde in der 56. Woche p.i. durch Ge-

nickschlag ad exitum gebracht und zur Probenentnahme seziert.

Das letzte Tier dieses Versuches (Nr. 14), bei dem ebenfalls eine Inokulation in den Glaskörper des rechten Auges erfolgt war, reagierte erst am 7. Tag p.i. mit einer Anisokorie und einer verzögerten und unvollständigen Reaktion der Pupille auf direkte Beleuchtung. In den folgenden Tagen kamen eine heftige Blepharitis und eine Konjunktivitis mit einer ausgeprägten Hyperämie der konjunktivalen Gefäße hinzu. Die Vorderkammer blieb zunächst optisch leer und gab den Blick auf einen leicht getrübten Glaskörper frei. In der zweiten Woche trübte die Vorderkammer ebenfalls stark ein und machte fortan die Beurteilung tieferer Augenabschnitte unmöglich. Es trat ein leichter entzündlicher Exophthalmus hinzu. Die Kornea wirkte von innen beschlagen, von peripher setzte eine oberflächliche und tiefe Vaskularisation ein. In der 4. Woche p.i. starb das Tier; die mikrobiologische Untersuchung einer Aszitesprobe ergab den Nachweis fusiformer Stäbchen, so daß auf eine Peritonitis infolge der Perforation eines abdominalen Hohlorgans als Todesursache geschlossen wurde. Bei diesem Tier war eine Entnahme von Proben zur Präparation für die Elektronenmikroskopie wegen der langen Zeitspanne zwischen dem spontanen Ableben und der Sektion nicht mehr sinnvoll und wurde daher unterlassen.

Bei den beiden übrigen Tieren wurden Proben der kompletten hinteren Bulbuswand, der Lymphknoten des rechtsseitigen zervikalen Abflußgebietes sowie Proben

aus Lunge, Herz, Zwerchfell, Milz, Leber und Niere entnommen und einer sorgfältigen lichtmikroskopischen Prüfung unterworfen. Ebenso wurde das Unterhautbindegewebe beider Tiere präpariert und filarienverdächtige Strukturen entnommen und ebenfalls untersucht. Mit Ausnahme einzelner zervikaler Lymphknoten, in denen das Vorhandensein von Larvenstrukturen lichtmikroskopisch nicht sicher ausgeschlossen werden konnte, wurde bei allen erwähnten Untersuchungen kein Anhalt für die Infektion oder Invasion durch Filarien oder deren Larven gefunden. Die erwähnten zervikalen Lymphknoten wurden einer elektronenmikroskopischen Kontrolle unterzogen. Auch dabei fanden sich keine Mikrofilarien oder Fragmente larventypischer Strukturen.

5. Diskussion

Die Literatur, soweit sie den Befall des Auges durch Mikrofilarien betrifft, bezieht sich vorwiegend auf klinische Beobachtungen, seltener auf histologische Untersuchungen enukleierter Bulbi. Erst im weiteren wird von Untersuchungen tierischer Augen nach experimenteller Larvenapplikation in verschiedene Augenabschnitte (in der Regel beim Kaninchen) berichtet.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß sich die Mikrofilarien von Dipetalonema witei ausschließlich innerhalb der Gefäße der Choriokapillaris und der Endaufzweigungen der von der Zentralarterie versorgten retinalen Gefäße aufhalten. Zieht man zusätzlich in Erwägung, daß die Verteilung der Wurmlarven im übrigen Wirtsorganismus ebenfalls ausschließlich auf dem Blutwege erfolgt, so drängt sich der Schluß auf, daß die Ziliararterien und die Zentralarterie die Eintrittspforten in den Augapfel für die Mikrofilarien darstellen, zumal trotz sorgfältigster Untersuchungen des vorderen Augenabschnittes in diesem Bereich nie der Nachweis von Larven gelang. Dieser Eintrittsmodus gleicht dem einiger humanpathogener Mikrofilarien wie Wuchereria bancrofti und Loa loa, bei denen Transport und Verteilung über den Wirtsorganismus ebenfalls auf dem Blutwege erfolgt. Auch bei diesen gelang der Nachweis von Mikrofilarien im vorderen Abschnitt nur vereinzelt. Leber (1914) beschrieb erstmals beim Befall des hinteren Augenabschnittes durch Mikrofilarien von W.bancrofti miliare Embolien und Thrombosierungen sowie "gelblich-

weiße Pfröpfe", die an einigen Stellen die Blutsäule retinaler Gefäße unterbrachen. Die Gefäße wiesen peripher von diesen Unterbrechungen Blutleere und/ oder Kaliberreduzierungen auf. In der Umgebung fanden sich weiße Degenerationsherde (Leber, 1914). Toussant (1965) fand beim Befall mit Loa loa erstmals Mikrofilarien sowohl in retinalen als auch in chorioidalen Blutgefäßen. Langlois (1962), Toussaint (1965) und Corrigan (1968) beschrieben neben Arterienverschlüssen Netzhautblutungen. Alle diese Beobachtungen zeigen eine deutliche Analogie zu den eigenen Untersuchungsergebnissen über den Invasionsmodus des Auges durch Dipetalonema witei. Die Larven halten sich ebenfalls intravasal auf und dringen weit in die Gefäßperipherie vor, so daß sie die Lumina kleiner Kapillaren zu verschließen vermögen. Bei entsprechend hohem Infektionsgrad kann davon ausgegangen werden, daß durch diese "Mikroemboli" eine Mangelversorgung der hochempfindlichen retinalen Strukturen mit allen bekannten Folgen eintritt.

Völlig anders liegen die Verhältnisse beim Befall des Auges durch Mikrofilarien von Onchocerca volvulus. Ihr Verbreitungsweg sind die Gefäße und Kapillaren des lymphatischen Systems sowie die Interzellularräume verschiedenster Gewebe. Während die Larven der zuvor beschriebenen Arten den vorderen Augenabschnitt nahezu vollständig aussparen, ist dieser für die Larven von Onchocerca volvulus eine Haupteintrittspforte. Trojan (1975) stellt die These auf, daß die Larven die Bulbuswand auf subkonjunktivalem Weg erreichen, um in das Hornhautstroma und die Vorderkammer einzudringen, wo sie auf Grund einer vermuteten Photophilie kumulieren. Andere Autoren betrachten den Be-

fall des vorderen Augenabschnittes als einen Gradmesser für die Schwere des okulären Befalls insgesamt, der eine Aussage über die Prognose der Erkrankung ermöglicht (Thylefors et al., 1977; Thylefors, 1978). Neumann et al. (1973) vermuten auf Grund histologischer Untersuchungen, bei denen sie Mikrofilarien fast nur in der Sklera fanden, daß die Larven vom vorderen Augenpol aus den hinteren Augenpol über die Interzellularräume des äußeren Drittels der Sklera erreichen (Abb. 45 A). Ein Larvennachweis in der Chorioidea gelang ihnen äußerst selten. Einen weiteren Invasionsweg für die Larven diskutieren Bird et al. (1976), die als Eintrittsstellen in die Strukturen des hinteren Augenpols die durch die Ziliararterien bedingten Perforationsstellen in der Sklera mit dem pervaskulären Gewebe als Migrationsstrecke vermuten (Abb. 45 B). Sie gestehen zwar zu, daß bei hohem Infektionsgrad auch vereinzelt Larven im peripheren Blut erscheinen und somit auch ein Eintritt über die versorgenden Cefäße möglich erscheint. Sie bevorzugen aber dennoch ihre Hypothese mit den Argumenten, daß 1. die Fundusbefunde mit großer Regelmäßigkeit im Bereich der Eintrittsstellen der Ziliararterien beginnen, und 2. die Erkrankungsstadien beider Augen nur selten synchron sind, was bei einem Eintritt der Larven auf dem Blutwege erwartet werden müßte. Duke et al. (1976 c) berichteten in diesem Zusammenhang, daß ihnen ein Larvennachweis nur unter Therapie mit Filariziden im peripheren Blut gelang, was die Hypothese von Bird et al. zusätzlich stützt. Wie schon in der Einleitung beschrieben treten bei der Onchozerkose embolische Verschlußphänomene im

Bereich der Netzhaut- und Chorioidalgefäße, wie sie bei den "hämatogenen Mikrofilariosen" beobachtet werden, in den Hintergrund. Klinische und histologische Befunde haben gezeigt, daß bei der Onchozerkose entzündliche Prozesse die Hauptursache für eine permanente Schädigung des Sehorgans sowohl im vorderen wie auch im hinteren Organabschnitt darstellen. Neumann et al. (1973) beobachteten diese nie in der Umgebung lebender, oft in der Umgebung toter und meist unabhängig von der Anwesenheit von Mikrofilarien* in Form perivaskulärer Infiltrate, die schließlich ebenfalls zum Verschluß des Lumens führten. Somit spielen die Mikrofilarien von Onchocerca volvulus im Hinblick auf die Blockade der empfindlichen retinalen Strukturen des menschlichen Auges eher eine indirekte Rolle, worin sie sich maßgeblich von den intravasalen Larven anderer Filariengattungen unterscheiden.

Man muß also davon ausgehen, daß es für die Pathogenese filariosebedingter ophtalmologischer Erkrankungen von entscheidender Bedeutung ist, ob die Wurmlarven das Auge mit dem Blutstrom oder über den Zwischenzellraum bzw. das lymphatische Kapillarnetz erreichen. Es ist somit festzustellen, daß das von Dipetalonema witei - Larven befallene Nagerauge nur bedingt und unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Invasionsmodi zum Studium der okulären Onchozerkose geeignet ist. Eine Anwendung dieses Tiermodells auf jene Filarien, deren Mikrofilarien das

---

* Vermutlich waren an diesen Stellen die toten Larven von den immunkompetenten Zellen bereits vollständig eliminiert worden.

Auge auf dem Blutwege erreichen (z.B. Loa loa, Wuchereria bancrofti, Brugia malayi) erscheint dagegen sinnvoller zu sein, da hier Perfusionsstörungen, die durch die Larven direkt verursacht werden, im Vordergrund stehen.

Von verschiedenen Autoren ist versucht worden, durch Injektion von Onchocerca volvulus - Larven in verschiedene Augenabschnitte von Kaninchen onchozerkosetypische Läsionen zu reproduzieren, um auf diese Weise der Klärung ihrer Pathogenese näher zu kommen. So führten beispielsweise Duke et al. Larveninokulationen unter die Konjunktiva, in den Glaskörper und unter die Retina durch (Duke et al., 1972; Garner et al., 1973; Duke et al., 1975 a, 1976 a; Garner et al., 1976). Sie beobachteten den klinischen Verlauf und untersuchten die entnommenen Bulbi histologisch. Die erhobenen Befunde verglichen sie mit jenen, die sich üblicherweise bei der okulären Onchozerkose ergeben, wobei sie viele Ähnlichkeiten feststellten. In Anlehnung an diese Versuche wurden in der vorliegenden Arbeit zwei Gruppen von Kaninchen gebildet und jeweils Mikrofilarien und metazyklische Larven subkonjunktival bzw. in den Epikanthus, in die Vorderkammer und in den Glaskörper inokuliert. Wie in der Einleitung (Kapitel 1) erwähnt, stellen metazyklische Larven unter natürlichen Bedingungen das Larvenstadium dar, das vom Zwischenwirt auf den Hauptwirt übertragen wird, um sich dort über die L_4-Larve zum adulten Wurm zu entwickeln. Sie kommen also unter normalen Umständen nicht im Auge vor. Mit diesem Teil des Versuches sollte also einerseits geprüft werden, ob Larven verschiedener Stadien unterschied-

liche (spezifische ?) Läsionen am Auge verursachen, und andererseits, ob die Kleinnagerfilarie Dipetalonema witei in einem in der Natur nicht als solcher fungierenden Wirt zu kultivieren ist. Grundsätzlich ist festzustellen, daß die an den Kaninchenaugen erhobenen Befunde umso gravierender waren, je tiefer der Augenabschnitt lag, in den inokuliert wurde. Ferner zeigte die Schwere der Symptome eine deutliche Abhängigkeit zur Infektionsdosis (die Anzahl der inokulierten Mikrofilarien betrug etwa 41.000, die der metazyklischen Larven 500). Ein qualitativer Unterschied der Symptome war bei Betrachtung jeweils gleicher Augenabschnitte nicht festzustellen. Eine gewisse Ähnlichkeit zu onchozerkosetypischen Läsionen bestand lediglich im Bereich des vorderen Augenabschnitts in Form von Veränderungen im Sinne einer sklerosierenden Keratitis und Iritis. Einschränkend muß jedoch eingeräumt werden, daß sich diese Veränderungen sehr viel schneller einstellten als bei der Onchozerkose, die eine eher chronische Erkrankung des Auges darstellt; und daß sie nur sehr bedingt spezifisch für sie sind und auch bei zahlreichen anderen auf das Auge wirkenden Noxen beobachtet werden können. Auch die Diagnose einer Onchozerkose ist nur durch den Nachweis von Mikrofilarien im Bereich des vorderen Augenabschnittes bzw. durch Untersuchung von Hautbiopsien sicher zu stellen (Schulz-Key, 1978). Grundsätzlich schränken zwei Überlegungen die Möglichkeit der Anwendung von Versuchen mit Onchocerca volvulus - Mikrofilarien an Tieraugen zur Erforschung der Pathogenese der okulären Onchozerkose ein:

1. Auf Grund der am Anfang dieses Kapitels angestellten Überlegungen zum natürlichen Invasions-

modus interstitieller und "intravasaler" Mikrofilariosen, sollte in Erwägung gezogen werden, daß die spezifischen Wirkungen, die von den Larven erwartet werden, durch die Irritationen, welche von der Applikation per se in dem gegen Noxen jeglicher Genese hochempfindlichen Sehorgan hervorgerufen werden, überdeckt werden könnten. Hinzu kommt, daß die Applikation, zumindest am hinteren Augenpol, im Rahmen dieser Arbeit und bei den erwähnten Autoren an Orte erfolgt, die Ziel und nicht Ausgangspunkt der Larvenwanderung sind.

2. Eine zweite Einschränkung leitet sich aus der spezifischen Bindung des Parasiten an seinen Wirt ab, die in der Regel darauf beruht, daß der Parasit im Laufe der Evolution die Fähigkeit entwickelt hat, sich gegen die Abwehrmechanismen seines Wirtes zu schützen. Das bedeutet jedoch gleichzeitig, daß jeder Parasit, der in einen Fehlwirt gerät, von Anfang an seiner Möglichkeiten, sich durch "Maskierung" dem Zugriff des wirtseigenen Immunsystems zu entziehen, beraubt ist. Diese Überlegung wird durch zahlreiche Veröffentlichungen über Infektions- und Transplantationsversuche von Parasiten auf diverse nicht natürliche Wirte unterstützt. Zielke (1979) übertrug beispielsweise metazyklische Larven von Wuchereria bancrofti auf verschiedene Nager (Meriones unguiculatus, Mastomys natalensis), wobei er jedoch in keinem Fall die Entwicklung adulter Filarien beobachten konnte. Wenk et al. (1967) stellten bei der Übertragung der die amerikanische Baumwollratte

(Sigmodon hispidus litoralis) befallenen Filarie Litomosoides carinii auf andere Kleinnager fest, daß erhebliche Unterschiede in der Empfänglichkeit der Versuchstiere für den Parasiten bestehen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam vorher auch Olson (1959), dessen Versuche, diesen Parasiten auf weißen Laborratten zu kultivieren, ebenfalls nicht zu positiven Ergebnissen führten. Jean et al. (1980) transplantierten Onchozerkoseknoten von Patienten auf verschiedene Kleinnager und beobachteten, daß die (als Antigen erkannten) Parasiten in relativ kurzer Zeit teils abgetötet wurden oder im Falle des Überlebens erhebliche Läsionen aufwiesen.

Diese Ergebnisse legen also den Schluß nahe, daß ein Fehlwirt umso schneller und aggressiver auf einen "Fehlparasiten" reagiert, je weiter er phylogenetisch vom adäquaten Wirt entfernt ist. Eine Entwicklung kann in diesen Fällen nur erwartet werden, wenn das Immunsystem auf Grund einer suppressiven Therapie oder einer systemischen Erkrankung nicht aktiv werden kann. So berichten beispielsweise Greene et al. (1978) von einer Patientin, die wegen eines systemischen Lupus erythematodes unter massiver Steroidtherapie stand, über den Nachweis tierpathogener Mikrofilarien im peripheren Blut. Diese Erfahrungen decken sich weitgehend mit den Erebnissen der eigenen Untersuchungen. Die Weiterentwicklung von metazyklischen Larven zu L_4-Larven oder zu adulten Filarien mit anschließendem Erscheinen von Mikrofilarien im peripheren Blut oder in den untersuchten Organen konnte nicht beobachtet werden.

Auch gelang niemals der Nachweis von inokulierten Larven im gleichseitigen Lymphabflußgebiet.

Es kann daher davon ausgegangen werden, daß die artifizielle Verbringung von Filarienlarven zumindest in den hinteren Augenabschnitt im Hinblick auf die komplizierte, multifaktorielle Pathogenese der Veränderungen in diesem Bereich wahrscheinlich nicht zu verwertbaren Ergebnissen führt. Gleichwohl bleibt zu überlegen, inwieweit solche Versuche zur Erforschung der therapierten Onchozerkose dienen können, da hier die Mikrofilarien ebenfalls abrupt für das Immunsystem erkennbar werden, was regelmäßig zu einer vorübergehenden Verschlimmerung der okulären und allgemeinen Symptome führt (Anderson et al., 1976; Fuglsang, 1978; Bird et al., 1980; Taylor et al., 1980).

Ein zweiter Untersuchungsgegenstand dieser Arbeit war die Verbreitung der Larven über verschiedene Gewebe und Organe des Wirtes sowie eventuelle Veränderungen ihrer Morphologie und ihrer Verbreitung unter Therapie mit den Filariziden Metrifonat und Diäthylkarbamazin. Bei der Betrachtung der hier gewonnenen Ergebnisse scheint es ebenfalls sinnvoll, zwischen Filariosen mit einer über den Blutkreislauf erfolgenden Larvenausbreitung und solchen zu unterscheiden, deren Larven sich im Interzellularraum bzw. in den Gefäßen des lymphatischen Systems aktiv fortbewegen.

Über Onchocerca volvulus als Vertreter des letzteren Verbreitungsmodus wird berichtet, daß ein Larvennachweis bisher in der Aorta und anderen Blutgefäßen, in der Niere und im Urin, in der Lunge und im Sputum,

sowie in der Leber, der Milz, im lymphatischen System, im Nervengewebe und im Liquor gelang, ohne daß angegeben wird, ob diese Beobachtungen unter natürlichen Bedingungen oder unter Therapie mit Filariziden zustande kamen (WHO, 1974). Wie schon an anderer Stelle erwähnt wurde, berichten Duke et al. (1975 b, 1976 b, 1976 c) hierzu, daß sie den Übertritt von Mikrofilarien von Onchocerca volvulus in das Blut nur unter Therapie mit Filariziden beobachtet haben. Sie stellten weiter fest, daß die Larven nur dann im Sputum, Liquor und Urin erscheinen, wenn ihr Übertritt ins Blut vorher durch entsprechende Maßnahmen provoziert wurde. Als Nachtrag zur Diskussion des okulären Befalls sei hier noch ergänzt, daß Duke et al. (1976 c) nach eigenen Beobachtungen einen Übertritt von Larven ins Kammerwasser direkt aus dem Blutstrom für wenig wahrscheinlich halten. Schließlich geben sie noch der Vermutung Ausdruck, daß die Leber unter Therapie mit Diäthylkarbamazin eine zentrale Rolle bei der Elimination der ins Blut gelangten Mikrofilarien einnimmt. Systematische pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen zum Organbefall beim Menschen bei bestehender Onchozerkose stehen jedoch bis heute aus.

Erste Hinweise auf eine Mitwirkung des retikuloendothelialen Systems der Leber bei der Ausschaltung der mit dem Blut zirkulierenden Mikrofilarien unter Therapie mit Diäthylkarbamazin fand Woodruff (1950) bei einem Patienten mit Loiasis. Er entnahm vor und nach der Verabreichung des Medikamentes Leberbiopsien und ließ sie auf das Vorkommen von Mikrofilarien untersuchen. Es zeigte sich, daß die Larven vor der Thera-

pie in geringer Anzahl frei in den Kapillaren und Sinusoiden lagen und keinerlei Anzeichen für eine Reaktion seitens der wandständigen Phagozyten (Kupffer'sche Sternzellen) bestanden. Unter Therapie nahm die Larvendichte im peripheren Blut drastisch ab, während sie gleichzeitig im Kapillarnetz der Leber erheblich anstieg. Vereinzelt waren Mikrofilarien zu beobachten, die an Phagozyten fixiert zu sein schienen. Woodruff (1950) schloß aus diesen Beobachtungen ebenfalls auf eine wichtige Rolle der Leber bei der Elimination von mit dem Blut zirkulierenden Filarienlarven unter Therapie mit Diäthylkarbamazin. Worms et al. (1961) führten an mit Dipetalonema witei infizierten Exemplaren von Meriones libycus histologische Untersuchungen über die Mikrofilarienverteilung in verschiedenen Organen unter natürlichen Bedingungen durch. Dabei beobachteten sie die höchsten Larvenkonzentrationen im Herzmuskel, im Lungengewebe und in der Niere; mäßig hohe Konzentrationen stellten sie in der Leber und in der Skelettmuskulatur fest. Selten fanden sie dagegen Mikrofilarien im Gehirn und in der Milz, ausgesprochen sporadisch gelang ihnen der Nachweis von Larven in der Kutis. Eine zusätzlich ausgeführte Bestimmung der Mikrofilariendichte im Blut des linken Ventrikels ergab hier wie in der Organmuskulatur selbst extrem hohe Werte. Angaben über Wechselwirkungen zwischen Wirt und Parasit fehlen. Auch in der vorliegenden Arbeit wurden die höchsten Larvendichten im Lungengewebe und im Herzmuskel gefunden. Worms et al. (1961) fassen das Kapillarnetz der Lunge als Reservoir für die Larven auf, aus dem durch verschiedene Reize ihre massive Ausschwemmung in die Blutbahn

provoziert werden kann, sie beobachteten diese Wirkung in eigenen Experimenten unter Exposition der Nager in reinem Sauerstoff und verschiedenen Inhalationsanästhetika. Anderen Untersuchern fiel auf, daß in der Lunge Auseinandersetzungen der Larven mit Zellen der Immunabwehr nur selten zu beobachten sind (Zahner et al., 1978). Aus anatomischen Gründen ist bei Ausschwemmung der Mikrofilarien aus dem Kapillarnetz der Lunge die Herzmuskulatur wegen der hier noch extrem hohen Larvenkonzentration des Blutes einer Invasion am intensivsten ausgesetzt, so daß besonders in der reich perfundierten linken Ventrikelwand eine besonders starke Durchsetzung des Gewebes zu erwarten ist. Im Vergleich zu den Beobachtungen von Worms et al. (1961) fanden sich in dieser Arbeit ausgesprochen häufig Mikrofilarien im Lebergewebe, wobei die Ursache darin liegen könnte, daß die Untersuchungen an verschiedenen Wirtstieren durchgeführt wurden. Wie erwähnt wurde, ist Mastomys natalensis nicht der natürliche Wirt für Dipetalonema witei, so daß vermutet werden kann, daß das Immunsystem der Leber in einem höheren Grade stimuliert war als bei den von Worms et al. untersuchten Meriones libycus mit der Folge einer stärkeren Kumulation von Larven in den Kapillaren und Sinusoiden. Ähnliche Beobachtungen wie in der Herzmuskulatur wurden in dieser Arbeit zusätzlich im Zwerchfell angestellt, auch hier war die Durchsetzung des Gewebes sehr hoch, wobei zelluläre Reaktionen von Seiten der Phagozyten ebenfalls vermißt wurden. Worms et al. (1961) fanden in der Skelettmuskulatur häufiger Larven, als es in dieser Arbeit gelang. Übereinstimmungen bestehen dagegen bezüglich der Untersuchungsergebnisse beim Ge-

hirn und bei der Milz. Beide Organe enthalten nur in geringer Anzahl Mikrofilarien, was angesichts der bei beiden Organen reichlichen Perfusion überrascht. Die Niere gehört in den Arbeiten von Worms et al. (1961) zu den Organen, die nach Herz und Lunge am dichtesten von Filarienlarven befallen sind, während in der vorliegenden Arbeit hier der Larvennachweis nur sporadisch gelang. Dieser Unterschied könnte wiederum wirtsspezifische Gründe haben; zusätzlich bleibt zu überlegen, inwieweit der Tötungsmodus sich auf die Larvenausschüttung auswirkt. Worms et al. (1961) töteten ihre Tiere durch Schlag auf den Kopf, während in der vorliegenden Arbeit die Tötung durch Chloroform erfolgte. In der Kutis fanden jene Autoren ebenfalls nur vereinzelt Mikrofilarien, was die Frage aufwirft, wie die Larven zu ihrer Weiterentwicklung in ihren Zwischenwirt gelangen. In diesem Zusammenhang stellen Fuglsang et al. (1976 b) anläßlich von ihnen beobachteter periodischer Konzentrationsschwankungen von Onchocerca volvulus - Larven in der menschlichen Haut die interessante Hypothese auf, die Larven könnten durch jahreszeitliche Schwankungen der Stechaktivität der Zwischenwirte unterschiedlich stark zur Einwanderung in die für die Mücken erreichbaren Gewebeschichten veranlaßt werden. Da der Saugakt der als Zwischenwirt von Dipetalonema witei fungierenden Wanzen sehr viel länger dauert als der der Simulien und außerdem die Kutis von den Larven auf dem Blutwege in sehr kurzer Zeit erreicht werden kann, ist denkbar, daß sie erst auf einen entsprechenden "chemischen" Reiz hin das Kapillarnetz der Lunge verlassen, um in ihren Zwischenwirt überzuwechseln. Daß die Ausschüttung durch verschiedene Reize zu

provozieren ist, zeigen Experimente mit reinem Sauerstoff und verschiedenen Inhalationsanästhetika (Worms et al., 1961; Thomas et al., 1979). Eine Untersuchung von Lymphknoten bei Infektion mit Dipetalonema witei wird in der Literatur nicht erwähnt. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf die Untersuchung mesenterialer Lymphknoten, wobei jedoch nur in einem einzigen Präparat eine Wurmlarve gefunden werden konnte. Diese schien von einer phagozytierenden Zelle attackiert zu werden, was Anlaß zu der Vermutung gibt, daß sich die Larven von D.witei nur in Ausnahmen im Lymphgefäßsystem aufhalten und in diesen Fällen den immunkompetenten Zellen sofort zum Opfer fallen.

Obwohl es einige Veröffentlichungen über morphologische Veränderungen an Mikrofilarien von D.witei unter Therapie gibt (s.u.), ist bisher verhältnismäßig wenig über den Organbefall bzw. das Migrationsverhalten der Larven in diesem Zusammenhang berichtet worden. Über die Nagerfilarie Litomosoides carinii liegen hierzu bereits umfangreichere Ergebnisse vor. Hawking et al. (1950) untersuchten erstmals Veränderungen der Larvenausbreitung im Wirtsorganismus unter Einwirkung von Diäthylkarbamazin, nachdem sie zuvor die Kultivierung der Filarie unter Laboratoriumsbedingungen etabliert und zum Studium der Wirksamkeit von filariziden Chemotherapeutika herangezogen hatten (Hawking et al., 1948). Dabei wurde jedoch zunächst ausschließlich der Abfall der Larvenkonzentration im peripheren Blut in Kombination mit dem Ausmaß der Läsionen an den adulten Würmern als Wirksamkeitskriterium herangezogen (Sewell et al., 1950; Wagner, 1956). Vor der Etablierung dieses Tiermodells

war man auf die Prüfung in Frage kommender Substanzen in natürlich infizierten Tieren oder sogar in Patienten angewiesen, was neben ethischen Problemen Schwierigkeiten im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit gewonnener Erkenntnisse wegen der fehlenden Möglichkeit, die Versuchsbedingungen zu standardisieren, verursachte (Hewitt et al., 1947). Hawking et al. (1950) stellten bei ihren Untersuchungen fest, daß unter Therapie mit Diäthylkarbamazin der Abfall der Mikrofilarienkonzentration im peripheren Blut mit einem Anstieg ihrer Konzentration im Lebergewebe einhergeht. Taylor (1960) widmete sich diesem Phänomen eingehender, indem sie in einer entsprechenden Versuchsanordnung die Zirkulation der Mikrofilarien in den Kapillaren und Sinusoiden der Baumwollrattenleber in vivo vor, während und nach intravenöser Applikation des Medikamentes beobachtete. Dabei stellte sie fest, daß in unbehandelten Tieren die Larven völlig frei in den Leberkapillaren und Sinusoiden zirkulierten. Vereinzelt sah sie sogar Larven, die sich aktiv gegen den Blutstrom bewegten. Nach Injektion des Medikamentes machte sie die verblüffende Beobachtung, daß innerhalb weniger Minuten die Mehrzahl der Larven an den Kapillarwänden fixiert war, in der Regel mit den Schwanzenden. Häufig ging mit der Fixierung der Larven eine völlige Verlegung der Kapillarlumina mit entsprechender Unterbrechung der Perfusion dieses Bereiches einher. Nach einer Beobachtungszeit von etwa einer Stunde fand sie erste Larven, die mit Phagozyten in Kontakt standen, was sie bis zum Versuchsende nach sechs Stunden bei fast allen fixierten Mikrofilarien beobachtete. Mitsui et al. (1966) untersuchten erneut die Rolle der Leber bei der Elimi-

nation der zirkulierenden Mikrofilarien und bestätigten die bisherigen Beobachtungen, nach denen unter Therapie mit Filariziden eine Larvenkumulation in der kapillären Strombahn des Organs stattfindet mit anschließenden Phagozytosevorgängen seitens der Kupffer'schen Sternzellen. Schardein et al. (1968) führten erste elektronenoptische Untersuchungen zum Befall der Leber mit Litomosoides carinii - Larven durch und bestätigten die Beobachtungen Taylors, soweit sie die Fixations- und Abwehrvorgänge unter Therapie betreffen. Sie beobachteten jedoch erstmals vereinzelte Larven, die das Kapillarlumen verlassen hatten und in das Zytoplasma von Hepatozyten eingedrungen waren. Diese Larven hatten im Unterschied zu jenen, die im Gefäßlumen geblieben waren, zwar ihre Scheide eingebüßt, wiesen aber ansonsten deutlich weniger Läsionen von Seiten des Filarizids auf. Zahner et al. (1978) bezogen in ihre Untersuchungen an mit Litomosoides carinii infizierten Mastomys natalensis, die peroral mit Diäthylkarbamazin therapiert worden waren, neben der Leber die Milz, die Niere, die Lunge und die Pleurahöhle ein. Sie fertigten über eine Dauer von 72 Stunden in gewissen Zeitabständen von diesen Organen Quetschpräparate an und beurteilten die Larvendichte und Motilität unter gleichzeitiger Registrierung der Larvenkonzentration im peripheren Blut. Neben dem bereits beschriebenen Abfall der Larvenkonzentration im peripheren Blut unter fast gleichzeitiger Kumulation und Fixation in den Leberkapillaren mit anschließenden zellulären Abwehrvorgängen stellten sie fest, daß eine Immobilisation der Mikrofilarien auch in der Milz und in den Nieren stattfindet. Da-

bei wiesen die Maxima der jeweiligen Anteile der immobilisierten Larven zeitliche Abstände von mehreren Stunden auf. Zahner et al. beobachteten ferner, daß die Immobilisation der Larven in der Lunge schon nach einer Stunde nach Therapiebeginn rückläufig war und in der Pleurahöhle erst gar nicht stattfand. Unter Berücksichtigung von Beobachtungen von Hawking et al. (1950), daß Diäthylkarbamazin in vitro gegen Filarienlarven wirkungslos ist, schlossen sie, daß den phagozytierenden Zellen in der Leber und Milz unter Therapie mit diesem Therapeutikum die entscheidende Rolle bei der Mikrofilarienelimination zufällt. *

Über die Morphologie der Mikrofilarien von Dipetalonema witei unter natürlichen Bedingungen liegen bereits Veröffentlichungen vor, die auf elektronenmikroskopischen Untersuchungen beruhen (McLaren, 1972 a; Wohlthat, 1982). Die diesbezüglichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen in den meisten Punkten die veröffentlichten Beobachtungen. Unterschiede treten jedoch bei den Untersuchungsergebnissen auf, die den Aufbau der Larvenkutikula betreffen. Wohlthat (1982) unterscheidet eine Rindenschicht und eine Innere Schicht, während McLaren (1972 a) eine Außenschicht, eine aus drei Laminae bestehende Membran, eine äußere kortikale Schicht und eine fibröse Schicht nachwies. Die eigenen Beob-

---

* Ergänzend zu dieser Hypothese wäre denkbar, daß das Therapeutikum nach Verabreichung erst im Organismus zu wirksamen Metaboliten umgewandelt wird.

achtungen sprechen eher für eine Unterscheidung von vier Strukturen, wobei jedoch eingeräumt werden muß, daß die McLaren'schen Beobachtungen ebenfalls nicht in allen Punkten nachvollzogen werden konnten. Die Kenntnisse über das Häutungsverhalten von Filarienlarven im Wirt sind im Hinblick darauf, daß die Kutikula der Ort ist, an dem sich die Auseinandersetzung mit der humoralen und zellulären Abwehr abspielt, noch recht lückenhaft. Es ist denkbar, daß zukünftige Untersuchungen die Tauglichkeit des starren "Vier-Larven-Stadien-Zyklus" in Frage stellen werden. Es kann vermutet werden, daß die Larvenkutikula einem ständigen Umbauprozeß unterliegt, um der Immunantwort des Wirtes immer ein Stück voraus zu sein. Eine solche Hypothese würde die unter Diäthylkarbamazin erhobenen Befunde bezüglich der Larvenelimination in Leber und Milz erklären, wo dieser Prozeß gestört zu sein scheint. Einen Hinweis auf einen permanenten Kutikulaumbau stellt auch die bei den Adulten beobachtete Inkonstanz im Aufbau der Kutikula und ihrer Maße dar.

Neben der bereits zitierten Veröffentlichung von Schardein et al. (1968) liegen über morphologische Veränderungen an Mikrofilarien unter Therapie nur wenige Berichte vor. Langham et al. (1978) untersuchten Larven von Onchocerca volvulus anläßlich einer vergleichenden Studie von perkutaner und peroraler Therapie mit Diäthylkarbamazin. Sie stellten dabei insbesondere bei lokaler Anwendung des Medikamentes eine ausgeprägte Degeneration der Larven mit Auflösungserscheinungen der Kutikula und Zerstörung der Zellstrukturen fest. Seitens des Wirtes

fanden sie heftige zelluläre Abwehrreaktionen. Burchard et al. (1979 a) untersuchten therapieinduzierte Veränderungen an Onchocerca volvulus - Mikrofilarien , die unter Einwirkung von Metrifonat gestanden hatten. Sie beobachteten eine Verbreiterung und vermehrte Elektronentransparenz von Teilen der Kutikula unter gleichzeitigem Verlust ihrer Mehrschichtigkeit und einer Abflachung der Larvenringelung. Die Zellen wiesen besonders in Kernnähe zahlreiche Vakuolen auf, die Amphiden zeigten einen Zilienverlust. Zellgrenzen waren nicht mehr zu erkennen und die Kerne begannen, sich aufzulösen. Bestimmte Areale des Larvenkörpers hatten unter dem Einfluß des Medikaments eine besonders hohe Elektronendichte angenommen, was mit eigenen Beobachtungen an D.witei - Larven unter Metrifonat übereinstimmt. Burchard et al. (1979 a) bezeichnen diese als "osmiophilic myelin figures".

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen Beobachtungen, nach denen Läsionen an den Larven durch direkte Einwirkung seitens des Diäthylkarbamazins in den Hintergrund treten, während die unter dem Einfluß von Metrifonat stehenden Larven ausgeprägte Veränderungen aufweisen. Erstmals wurde in der vorliegenden Arbeit ein intrazellulärer Nachweis von Mikrofilarien bei D.witei - Infektion unter Therapie mit filariziden Therapeutika erbracht. Dieser Nachweis gelang sowohl nach Applikation von Diäthylkarbamazin als auch von Metrifonat. Nachdem Schardein et al. (1968) ein intrazelluläres Vorkommen von Litomosoides carinii - Larven unter Einfluß von Diäthylkarbamazin lediglich in Hepatozyten beobachteten, gelang in der vorliegenden Arbeit darüber

hinaus erstmalig der Nachweis in Zellen der Herz- und Zwerchfellmuskulatur ebenfalls unter Einfluß beider Therapeutika. Überlegungen über den Zweck des Eindringens in die Zellen verschiedener Gewebe und Organe führen zu der Hypothese, die Larven könnten sich auf diese Weise der Einwirkung des Therapeutikums vorübergehend entziehen, um später wieder in den interzellulären bzw. intravasalen Raum zurückzukehren (Mehlhorn et al., 1981). Nähere Untersuchungen über das weitere Schicksal der intrazellulären Mikrofilarien stehen jedoch noch aus. Insbesondere ist z.Z. noch ungeklärt, ob bei der Chemotherapie humanpathogener Filariosen ein ähnliches Verhalten der Filarienlarven auftritt. Immerhin stellt das intrazelluläre Vorkommen von Mikrofilarien den mit der Entwicklung neuer Therapeutika befaßten Forscher sowie den vor Ort tätigen Arzt vor völlig neue Probleme.

Die Morphologie der adulten Filarien von D.witei wurde von Terry et al. (1961) lichtmikroskopisch untersucht, wobei sie den Geschlechtsorganen und der Mikrofilarienentwicklung im Uterus besondere Aufmerksamkeit widmeten. McLaren (1972 b, 1973 a, b, 1976) führte erstmalig elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der weiblichen und männlichen Keimzellen, den Vorgang der Befruchtung, sowie über das Nervensystem und die Sinnesorgane durch. Ellis et al. (1978) ergänzten diese Beobachtungen durch Studien über die Larvenentwicklung im Uterus. Publikationen über elektronenmikroskopische Untersuchungen anderer anatomischer Strukturen wie der Kutikula, der Muskulatur oder des Verdauungstraktes liegen über D.witei noch nicht

vor, so daß man beim Literaturstudium auf Arbeiten über Vertreter anderer Nematodenordnungen wie Ascaris lumbricoides oder Trichinella spiralis angewiesen ist (Rosenbluth, 1967; Bird, 1971; Niechoj, 1979; Niechoj et al., 1981).
Erst in jüngster Zeit erschienen erste raster- und transmissionselektronenmikroskopische Studien über die Filarie O.volvulus. Franz (1979, 1980) befaßte sich mit den Oberflächenstrukturen, speziell den Sinnesorganen und den verschiedenen Körperöffnungen adulter Filarien beider Geschlechter. Burchard et al. (1979 b) untersuchten die Filarien in operativ entfernten Onchozerka-Knoten unter dem Aspekt der zellulären Abwehrreaktionen in der Kutis des Wirtes und der damit verbundenen Läsionen an verschiedenen Strukturen des Parasiten wie der Kutikula, der Hypodermis und der Längsmuskulatur.

Beim Vergleich der Kutikula von D.witei mit der anderer Nematoden fällt die Inkonstanz der Maße einzelner Schichten und ihrer Morphologie insgesamt auf. Ähnlich wie bei den Mikrofilarien stellt auch die Adultenkutikula die Demarkationslinie der Auseinandersetzung zwischen dem Parasiten und dem Immunsystem des Wirtes dar. Auch hier kann vermutet werden, daß die Kutikula einem ununterbrochenen Umbauprozeß unterworfen ist, um einer Immunantwort auf die wurmeigenen antigenen Strukturen immer ein Stück voraus zu sein. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß die derzeitigen Kenntnisse über die Bildung der Kutikula, sowie über die Vorgänge, die sich zwischen der Filarie und dem Wirt abspielen, noch äußerst lückenhaft sind.

6. Zusammenfassung

Als Beitrag zur Filarioseforschung wurde das parasitäre Verhalten von Dipetalonema witei in experimentell infizierten Wirbeltieren licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Hierbei stand die Untersuchung des okulären Befalls durch die Mikrofilarien in adäquaten Wirten (Mastomys natalensis, Meriones persicus) und durch Larven unterschiedlicher Entwicklungsstadien nach Applikation in verschiedene Abschnitte von Kaninchenaugen im Vordergrund.
Weitere Untersuchungsgegenstände waren die Morphologie der adulten Filarien und der Mikrofilarienbefall verschiedener Gewebe und Organe unter natürlichen Bedingungen und unter Therapie mit Diäthylkarbamazin (Hetrazan^{R}) und Metrifonat (Dipterex^{R}).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß sich die Larven von D.witei fast ausschließlich in den retinalen und chorioidalen Blutgefäßen aufhalten, deren Endaufzweigungen sie zu verschließen vermögen. Vergleichbare humanpathogene Filarien sind Loa loa, Wuchereria bancrofti und Brugia malayi, deren Larven ebenfalls mit dem Blut zirkulieren und am hinteren Augenabschnitt durch Verschluß von Kapillaren zu Perfusionsstörungen führen können.

Die Larven von Onchocerca volvulus erreichen das Auge dagegen über die Interzellularräume der Subkutis und des perivaskulären Bindegewebes, um zunächst den vorderen Augenabschnitt zu befallen. Die Läsionen

sind bei der Onchozerkose fast ausschließlich auf entzündliche Prozesse als Folge des Absterbens der Larven zurückzuführen.

Der Invasionsweg der Larven ist also für die Art und Lokalisation der okulären Symptomatik von entscheidender Bedeutung. Die Nagerfilarie D.witei dürfte daher zum Studium der Pathogenese von Augenerkrankungen, die durch mit dem Blut zirkulierende Mikrofilarien verursacht werden (s.o.) geeignet sein, während sie zur Untersuchung der onchozerkosetypischen Augenschäden nur bedingt verwendbar ist.

Ein parallel durchgeführter Tierversuch, bei dem durch Injektion von Larven verschiedener Entwicklungsstadien an verschiedene Abschnitte von Kaninchenaugen das Entstehen filariosetypischer Läsionen provoziert werden sollte, führte zu nicht verwertbaren Ergebnissen. Eine Unterhaltung des Entwicklungszyklus von D.witei auf Kaninchen durch Inokulation von metazyklischen Larven gelang ebenfalls nicht.

Bei der Untersuchung der übrigen Organe zeigten die Lunge, die Herzmuskulatur, das Zwerchfell und die Leber die höchsten Filariendichten. Seltener fanden sich dagegen Mikrofilarien im Gehirn, in der Milz und in der Skelettmuskulatur. In den mesenterialen Lymphknoten, in der Niere und in der Subkutis waren sie nur vereinzelt anzutreffen. Ein interzellulärer Aufenthalt wurde nur in den erwähnten Geweben und Organen mit der beschriebenen hohen Filariendichte beobachtet.

Unter Einwirkung der beiden filariziden Therapeutika Diäthylkarbamazin und Metrifonat wiesen die Larven regelmäßig ausgeprägte Läsionen auf, die sich in einer Kutikulaverbreiterung, einer Aufhebung der Zellgrenzen, einer Zerstörung der Zellorganellen und Kernspalträume sowie der Bildung besonders elektronendichter Areale (nur bei Metrifonat) äußerten. Diese Schädigungszeichen waren unter Metrifonat sehr deutlich zu beobachten, während sie bei Diäthylkarbamazin in der Regel diskreter ausgeprägt waren. Unter der Einwirkung beider Therapeutika wurden einzelne Larven beobachtet, die die Membranen von Leberparenchym-, Herzmuskel- und Zwerchfellmuskelzellen penetrierten und in das Zytoplasma vorstießen. Diese Larven wiesen im Vergleich zu den extrazellulären deutlich weniger Läsionen auf oder zeigten sogar keinerlei Anzeichen für eine Beeinträchtigung durch das Präparat, so daß sie sich möglicherweise auf diese Weise dessen Einwirkung für eine gewisse Zeit zu entziehen vermögen.

Es bleibt zu prüfen, ob diese Larven ihren intrazellulären Aufenthalt ohne Schädigung überstehen und ob sie später in den Blutkreislauf zurückkehren können. Unerforscht ist bisher auch, ob ähnliche Phänomene bei humanpathogenen Filariosen auftreten. Konsequenzen für den Krankheitsverlauf und die Therapie ergäben sich nur, wenn die Anzahl der Mikrofilarien, welche sich durch das Eindringen in die Zelleiber der Wirkung des Filarizids entziehen, groß genug ist, um später nach Rückkehr in den Blutkreislauf eine noch immer relativ hohe Larvendichte zu gewährleisten. Dies ist auch eine Voraussetzung für die Übertragung des Parasiten auf den Zwischenwirt und

damit für die Aufrechterhaltung des Parasiten-Entwicklungszyklus.

7. Literatur

Anderson, J.; Fuglsang, H.; Marshall, C.T.F. de : Effects of Suramin in ocular onchocerciasis. Tropenmed. Parasitol. 27, 279-296, 1976.

Baltazard, M.; Chabaud, A.G.; Modifi, C.; Minou, A. : Une nouvelle filaire "de laboratoire". Ann. Parasitol. Hum. Comp. 28, 388, 1953.

Barkan, A. : A case of filaria in the anterior chamber. Arch. Ophthalmol. Otol. V, 15, 1876.

Bird, A.C.; Anderson, J.; Fuglsang, H. : Morphology of posterior segment lesions of the eye in patients with onchocerciasis. Br. J. Ophthalmol. 60, 2-20, 1976.

Bird, A.C.; el Seikh, H.; Anderson, J.; Fuglsang, H. : Changes in visual function and in the posterior segment of the eye during treatment of onchocerciasis with diethylcarbamazine citrate. Br. J. Ophthalmol. 64, 191-200, 1980.

Bird, A.F. : The structure of nematodes. Academic Press New York, 1971.

Burchard, G.D.; Albiez, E.J.; Bierther, M. : Electron microscopical studies on onchocerciasis II. Skin and microfilariae after treatment with metrifonate. Tropenmed. Parasitol. 30, 97-102, 1979 a.

Burchard, G.D.; Büttner, D.W.; Bierther, M. : Electron microscopical studies in onchocerciasis III. The onchocerca nodule. Tropenmed. Parasitol. 30, 103-112, 1979 b.

Chabaud, A.G. : Le genre Dipetalonema Diesing 1861. Essai de classification. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 27, 250-285, 1952.

Chatterji, K. : Adult filaria (Bancrofti) in the anterior chamber of the human eye. J. Indian Med. Assoc. 24, 146, 1954.

Corrigan, M.; Hill, D. : Retinal artery occlusion in loiasis. Br. J. Ophthalmol. 52, 477-480, 1968.

Dissanaike, A. et al. : Mature female filaria, probably Brugia sp., from the conjunctiva of man in West Malaysia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 23, 1023-1026, 1974.

Duke, B.O.L.; Anderson, J. : A comparison of the lesions produced in the cornea of the rabbit eye by microfilariae of the forest and Sudan savanna strain of Onchocerca volvulus from Cameroon. I. The clinical picture. Tropenmed. Parasitol. 23, 354-386, 1972.

Duke, B.O.L.; Garner, A. : Reactions to subconjunctival inoculation of Onchocerca volvulus microfilariae in pre-immunized rabbits. Tropenmed. Parasitol. 26, 435-448, 1975 a.

Duke, B.O.L.; Moore, P.J.; Vincelette, J. : Factors influencing the passage of Onchocerca volvulus microfilariae into the urine. Tropenmed. Parasitol. 26, 449-468, 1975 b.

Duke, B.O.L.; Garner, A. : Fundus lesions in the rabbit eye following inoculation of Onchocerca volvulus microfilariae into the posterior segment. I. The clinical picture. Tropenmed. Parasitol. 27, 3-17, 1976 a.

Duke, B.O.L.; Vincelette, J.; Moore, P.J. : Microfilariae in the cerebrospinal fluid, and neurological complications during treatment of onchocerciasis with Diethylcarbamazine. Tropenmed. Parasitol. 27, 123-132, 1976 b.

Duke, B.O.L.; Moore, P.J.; Vincelette, J. : The population dynamics of Onchocerca volvulus microfilariae during treatment with suramin and diethylcarbamazine. Tropenmed. Parasitol. 27, 133-144, 1976 c.

Ellis, D.S.; Rodgers, R.; Bianco, A.E.; Denham, D.A. : Intrauterine development of the microfilariae of Dipetalonema witei. J. Helminthol. 52, 7-10, 1978.

Franz, M. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Oberflächenstrukturen von Onchocerca volvulus (Leuckart, 1893) (Nematoda: Filarioidea). Dissertation, Hamburg 1979.

Franz, M. : Electron microscope study of the cuticle of male and female Onchocerca volvulus from various geographic areas. Tropenmed. Parasitol. 31, 149-164, 1980.

Fuglsang, H.; Anderson, J.; Marshall, C.T.F. de; Ayonge, S.; Fisiy, C. : Seasonal variation in the concentration of Onchocerca volvulus microfilariae in the skin. Tropenmed. Parasitol. 27, 365-369, 1976 b.

Fuglsang, H.; Anderson, J. : Further studies on the treatment of onchocerciasis with metrifonate. Tropenmed. Parasitol. 29, 168-174, 1978.

Garner, A.; Duke, B.O.L.; Anderson, J. : A comparison of the lesions produced in the cornea of the rabbit eye by microfilariae of the forest and Sudan savanna strains of Onchocerca volvulus from Cameroon. II. The pathology. Tropenmed. Parasitol. 24, 385-396, 1973.

Garner, A.; Duke, B.O.L. : Fundus lesions in the rabbit eye following inoculation of Onchocerca volvulus microfilariae into the posterior segment. II. Pathology. Tropenmed. Parasitol. 27, 19-29, 1976.

Greene, B.M.; Otto, G.F.; Greenough III W.B. : Circulation non - human microfilaria in a patient with systemic lupus erythematosus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27, 905-909, 1978.

Grüntzig, J. : Filariosen des Auges. in: Aktuelle Ophthalmologie, Hrsg. J. Küchle, Lehmann, München 1976.

Grüntzig, J. : Die Onchozerkose. Z. Prakt. Augen-Heilkd. 2, 47-64, 1981.

Hawking, F.; Sewell, P. : The maintenance of a filarial infection (Litomosoides carinii) for chemotherapeutic investigations. Br. J. Pharmacol. 3, 285-296, 1948.

Hawking, F.; Sewell, P.; Thurston, J.P. : The mode of action of Hetrazan on filarial worms. Br. J. Pharmacol. 5, 217-238, 1950.

Hewitt, R.I.; Kushner, S.; Stewart, H.W.; White, E.; Wallace, W.S.; Subbarow, Y. : Experimental chemotherapy of filariasis. III. Effects of 1-diethylcarbamyl-4-methylpiperazine hydrochloride

against naturally acquired filarial infections in cotton rats and dogs. J. Lab. Clin. Med. 32, 1314-1329, 1947.

Jean, B.; Schulz-Key, H.; Wenk, P. : Implantation von adulten Onchocerca volvulus in Mastomys, Meriones und Mäuse. Vortrag, 9. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie, 1980.

Langham, M.E.; Traub, Z.D.; Richardson, R. : A transepidermal chemotherapy of onchocerciasis. Tropenmed. Parasitol. 29, 156-162, 1978.

Langlois, M. : Filariose Loa, thrombose de l'artére centrale. Rev. Neurol. 107, 381, 1962.

Leber, A. : Filariotische Augenerkrankungen der Südsee. Albrecht von Graefes Arch. Klin. Ophthalmol. 87, 541-548, 1914.

Lucot, J.; Chovet, H. : Loase intraoculaire. Med. Trop. (Mars.) 32, 523-525, 1972.

Maertens, K.G.; Dechef, G. : Lesions retiniennes vasculaires dans la filariose Loa-loa. Vortrag auf dem 5. Kongreß der Societas Ophthalmologica Europaea, Hamburg 1976.

McLaren, D. : Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda: Filarioidea). Parasitology 65, 317-332, 1972 a.

McLaren, D. : Ultrastructural and cytochemical studies on the sensory organelles and nervous system of Dipetolonema viteae (Nematoda: Filarioidea). Parasitology 65, 507-524, 1972 b.

McLaren, D. : The structure and development of the spermatozoon of Dipetalonema viteae (Nematoda: Filarioidea). Parasitology 66, 447-463, 1973 a.

McLaren, D. : Oogenesis and fertilization in Dipetalonema viteae (Nematoda: Filarioidea). Parasitology 66, 465-472, 1973 b.

McLaren, D. : Nematode sense organs. Adv. Parasitol. 14, 195-270, 1976.

McMullen, W. : Filaria bancrofti in the interior of the eye. Proc. R. Soc. Med. 31, 128-130, 1937.

Mehlhorn, H.; Piekarski, G. : Grundriß der Parasitenkunde. Fischer, Stuttgart 1981.

Mehlhorn, H.; Steinhorst, U.; Lindenblatt, B.; Grüntzig, J.; Thomas, H. : Electron microskopic studies on microfilariae of Dipetalonema viteae and Litomosoides carinii: The occurence of intracellular parasites after treatment with metrifonate and diethylcarbamazine. Zentralbl. Bakteriol. (Orig. A) 251, 236-272, 1981.

Mitsui, G.; Sakuma, S.; Tasaka, S.; Tanaka, H. : Studies on the distribution of the microfilariae in the cotton rat before and after diethylcarbamazine administration. Jpn. J. Parasitol. 15, 169-174, 1966.

Nayar, K. et al. : A case of filariasis oculi. Br. J. Ophthalmol. 16, 549-551, 1932.

Neumann, E.; Gunders, A.E. : Pathogenesis of the posterior segment lesion of ocular onchocerciasis. Am. J. Ophthalmol. 75, 82-89, 1973.

Niechoj, H. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nematoden Trichinella spiralis. Diplomarbeit, Düsseldorf 1979.

Niechoj, H.; Mehlhorn, H. : Electron microscopic studies on the life cycle of Trichinella spiralis. J. Parasitol., 1981.

Nöller, H.C. : Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus. Klin. Wochenschr. 33, 770-771, 1955.

Olson, L.J. : The survival of migratory and post-migratory stages of Litomosoides carinii in white rats. J. Parasitol. 45, 182-188, 1959.

Osuntokun, O.; Olurin, O. : Filarial worm (Loa loa) in the anterior chamber. Br. J. Ophthalmol. 59, 166-167, 1975.

Raether, W.; Meyerhöfer, W. : Quantitative Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Mikrofilarien (Litomosoides carinii) mit Hilfe von Zählkammern nach Fuchs-Rosenthal und Jessen sowie Anreicherungsverfahren. Tropenmed. Parasitol. 18, 99-108, 1967.

Reynolds, E.S. : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208-213, 1963.

Ridley, H. : Ocular onchocerciasis. Br. J. Ophthalmol. Mono. Suppl. 10, 1-58, 1945.

Rosenbluth, J. : Obliquely striated muscle. III. Contraction mechanism of ascaris body muscle. J. Cell. Biol. 31, 15-33, 1967.

Sänger, I.; Lämmler, G. : On Dipetalonema viteae infection of Mastomys natalensis. Tropenmed. Parasitol. 30, 81-87, 1979.

Schardein, J.L.; Lucas, J.A.; Dickerson, C.W. : Ultrastructural changes in Litomosoides carinii microfilariae in gerbils treated with diethylcarbamazine. J. Parasitol. 54, 351-358, 1968.

Schulz-Key, H. : A simple technique to assess the total number of Onchocerca volvulus microfilariae in skin snips. Tropenmed. Parasitol. 29, 51-54, 1978.

Sewell, P.; Hawking, F. : Chemotherapy of experimental filariasis. Br. J. Pharmacol. 5, 239-260, 1950.

Tawara, M. : Eine Filarie in der Vorderkammer eines Japaners. Acta Soc. Ophthalmol. Jap. 40, 518-528, 1936.

Taylor, A.E.R. : Observations with the ultra pak microscope on microfilariae of Litomosoides carinii circulating in the liver of a cotton rat, before and after the administration of Hetrazan. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 54, 450-453, 1960.

Taylor, H.R.; Langham, M.E.; de Stahl, E.M.; Figueroa, L.N.; Beltranena, F. : Chemotherapy of Onchocerciasis: A controlled clinical trial of topical diethylcarbamazine in Guatemala. Tropenmed. Parasitol. 31, 357-364, 1980.

Terry, A.; Terry, R.J.; Worms, M.J. : Dipetalonema witei, filarial parasite of the jird, Meriones libycus. II. The reproductive system, gametogenesis and development of the microfilaria. J. Parasitol. 47, 703-711, 1961.

Thomas, H.; Meister, G. : Eine Methode zum Nachweis von Mikrofilarien von Dipetalonema witei im peripheren Blut von Mastomys natalensis. Tropenmed. Parasitol. 30, 170-173, 1979.

Thomas, H. : Experimentelle Infektion von Lederzecken mit Dipetalonema witei. Tropenmed. Parasitol. 30, 179-181, 1979 a.

Thomas, H. : Simultane Infektion mit Dipetalonema witei und Litomosoides carinii bei Mastomys natalensis. Tropenmed. Parasitol. 30, 363-370, 1979 b.

Thylefors, B.; Brinkmann, U.K. : The microfilarial load in the anterior segment of the eye. A parameter of intensity of onchocerciasis. Bull. WHO 55, 731-737, 1977.

Thylefors, B. : Ocular onchocerciasis. Bull. WHO 56, 63-73, 1978.

Toussaint, D. : Retinopathy in generalized Loa loa filariasis. Arch. Ophthalmol. 74, 470-476, 1965.

Trojan, H. : Fundusveränderungen im Sinne einer "flecked retina" bei Onchozerkose. Klin. Monatsbl. Augenheilkd. 166, 220-227, 1975.

Venable, J.H.; Coggeshall, R. : A simplified citrate stain for use in electron microscopy. J. Cell. Biol. 25, 407-408, 1965.

Wagner, W.H. : Modellinfektionen in der experimentellen Chemotherapie der Filariosen. Tropenmed. Parasitol. 7, 163-177, 1956.

Wenk, P.; Heimburger, L. : Infektionsversuche mit der Baumwollrattenfilarie Litomosoides carinii Chandler 1931 (Filariidae) bei inadäquaten Wir-

ten. Z. Parasitenkd. 29, 282-298, 1967.

WHO : Onchocerciasis. Hrsg. A.A. Buck, Geneva 1974.

Wohlthat, C. : Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Dipetalonema viteae und Litomosoides carinii in ihren Zwischenwirten. Staatsexamensarbeit, Düsseldorf 1981.

Woodruff, A.W. : Destruction of microfilariae of Loa loa in the liver in loiasis treated with Banocide (Hetrazan). Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 44, 479-480, 1950.

Worms, M.J.; Terry, R.J., Terry, A. : Dipetalonema witei, filarial parasite of the jird, Meriones libycus I. Maintenance in the laboratory. J. Parasitol. 47, 963-970, 1961.

Wright, R. : Adult filaria (Wuchereria bancrofti) in the anterior chamber. Br. J. Ophthalmol. 18, 646-650, 1934.

Zahner, H.; Soulsby, E.J.L.; Weidner, E.; Lämmler, G. : Effect of diethylcarbamazine on the microfilariae of Litomosoides carinii in Mastomys natalensis: Dynamics of cell adhesion, immobilization and elimination of microfilariae. Tropenmed. Parasitol. 29, 15-26, 1978.

Zielke, E. : Attempts to infect Meriones unguiculatus and Mastomys natalensis with Wuchereria bancrofti from West Africa. Tropenmed. Parasitol. 30, 466-468, 1979.

8. Verzeichnis der in den Abbildungen verwendeten Abkürzungen

ÄFS	=	Äußere fibrilläre Schicht
ÄKS	=	Äußere kortikale Schicht
ÄSG	=	Äußeres Stäbchensegment
ÄS	=	Äußere Schicht
A	=	Amphide
AX	=	Axon
AZ	=	Alveolarzelle
BM	=	Basalmembran
BS	=	Basalschicht
C	=	Kornea
CH	=	Chorioidea
CHR	=	Chromosom
D	=	Darmepithel
DL	=	Darmlumen
E	=	Eischale
EM	=	Embryo
ERY	=	Erythrozyt
EZ	=	Eosinophiler Granulozyt
GK	=	Glaskörper
HL	=	Hypodermalleiste
HY	=	Hypodermis
IFS	=	Innere fibrilläre Schicht
IKS	=	Innere kortikale Schicht
IS	=	Innere Schicht
ISG	=	Inneres Stäbchensegment
KL	=	Kutikularleiste
KU	=	Kutikula
KW	=	Kammerwasserabfluß
L	=	Lipidtropfen
LE	=	Lens

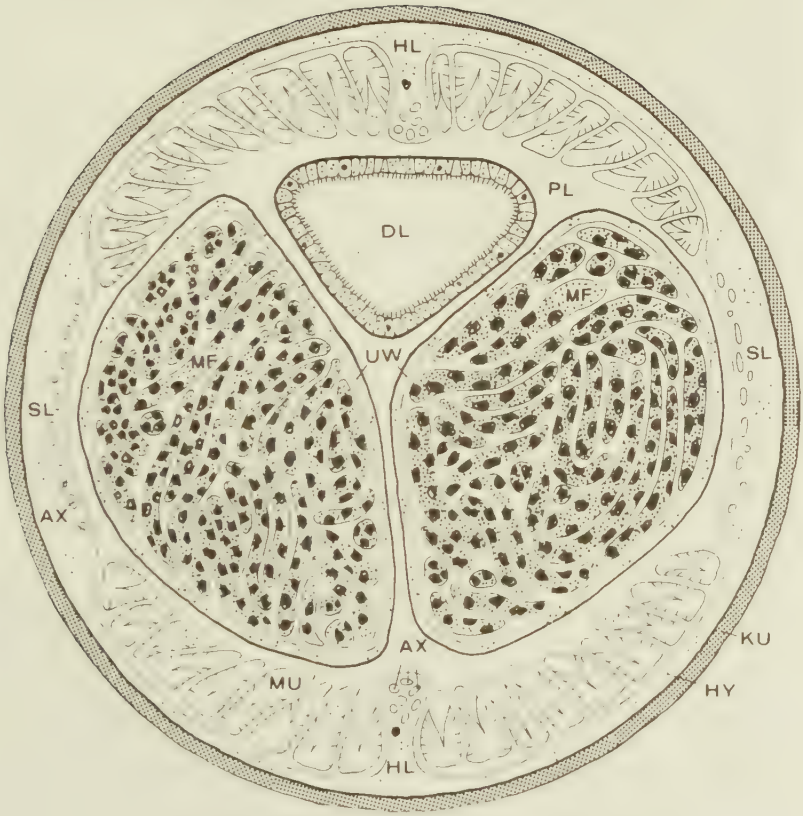
LZ	=	Lymphozyt
ME	=	Membran
MF	=	Mikrofilarie
MI	=	Mitochondrium
MLE	=	Membrana limitans externa
MLI	=	Membrana limitans interna
MS	=	Mittlere Schicht
MT	=	Mikrotubulus
MU	=	Muskelzelle
MV	=	Mikrovilli
N	=	Nukleus
NT	=	Neurotubulus
NU	=	Nukleolus
OE	=	Oesophagus
OF	=	"osmiophilic myelin figure"
OZ	=	Oozyt
PG	=	Pigmentgranulum
PL	=	Primäre Leibeshöhle
PZ	=	Phagozyt
RE	=	Retina
RI	=	Ribosom
RS	=	Receptaculum seminis - Wand
SC	=	Sklera
SGE	=	Stratum granulosum externum
SGI	=	Stratum granulosum internum
SGNO	=	Stratum ganglionare nervi optici
SL	=	Seitenleiste
SNE	=	Stratum neuroepitheliale
SP	=	Spermatozyt
SPE	=	Stratum plexiforme externum
SPI	=	Stratum plexiforme internum
SPR	=	Stratum pigmenti retinae

T	=	Trabekel
THR	=	Thrombozyt
TV	=	Tubuläres Vesikel
UW	=	Uteruswand
V	=	Vakuole
VK	=	Vorderkammer

9. ABBILDUNGEN

Abb. 1 Schematische Darstellung des Querschnittes eines adulten Weibchens von D.witei

Die Körperwand (Exoskelett) besteht aus der Kutikula (KU), der Hypodermis (HY) und der Längsmuskulatur (MU). In der primären Leibeshöhle (PL) liegen der Darm und die verschiedenen Abschnitte des Geschlechtsapparates (hier: die beiden Uterusschenkel mit zahlreichen Larven).



1

Abb. 2 - 3 Kutikula und Hypodermis. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 2 Mit der Hypodermis (HY) ist die Basale Schicht (BS) der Kutikula eng verzahnt. Es folgen vier weitere Schichten. Die Äußere kortikale Schicht (ÄKS) zeigt eine regelmäßige Ringelung (Pfeile). Längsschnitt.

Abb. 3 Eine Membran (ME) liegt der Äußeren kortikalen Schicht auf. Querschnitt.

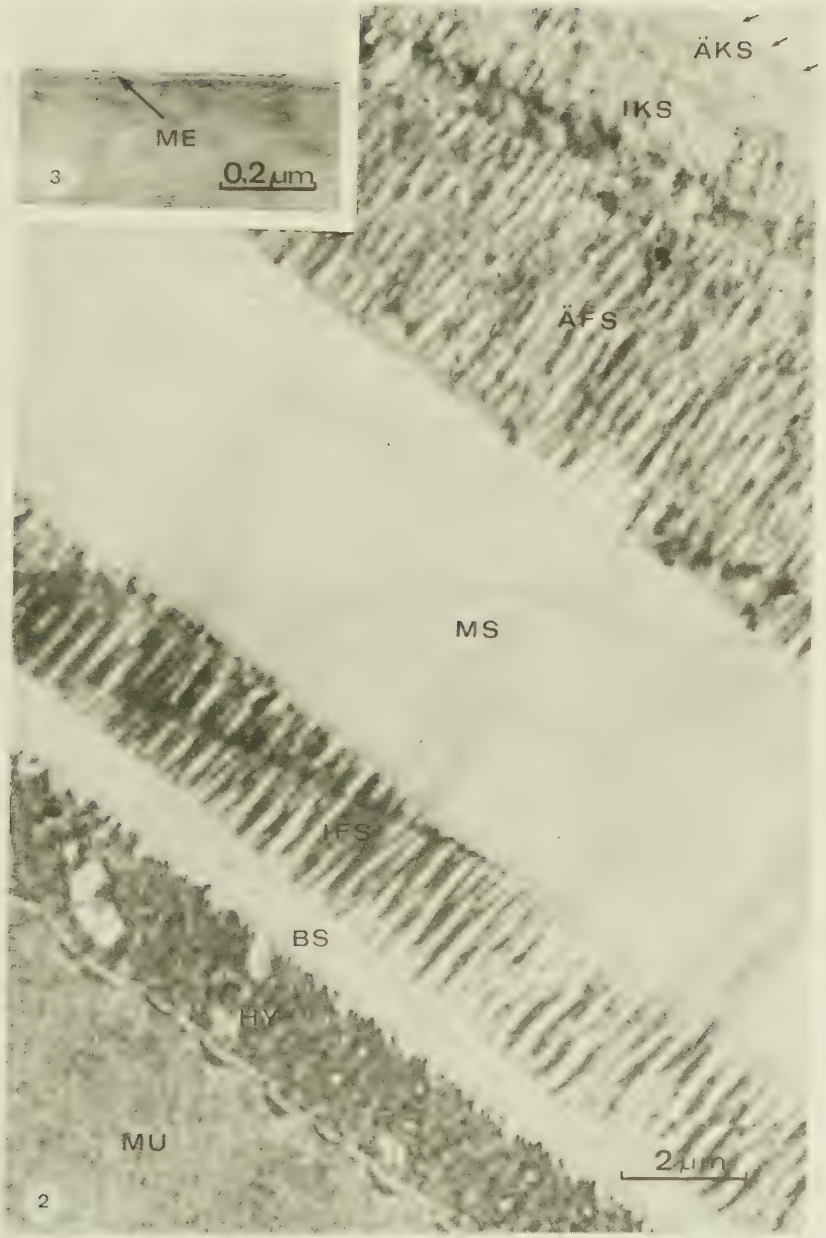

ÄKS
IKS
ÄFS
MS
IFS
BS
HY
MU
2 µm
2
ME
0,2 µm
3

Abb. 4 - 5 Hypodermalleiste. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 4 In der Spitze der Hypodermalleiste (HL) verlaufen die Nerven (AX).
Die Längsmuskelzellen (MU) erhalten durch zahlreiche kerbenartige Zytoplasmaeinziehungen einen gefiederten Aspekt. Im Bereich dieser Kerben ist die Zellmembran verdickt (Pfeile).
Querschnitt.

Abb. 5 Jedes Axon ist von hypodermalen Zellausläufern umscheidet und enthält zahlreiche Neurotubuli (NT).

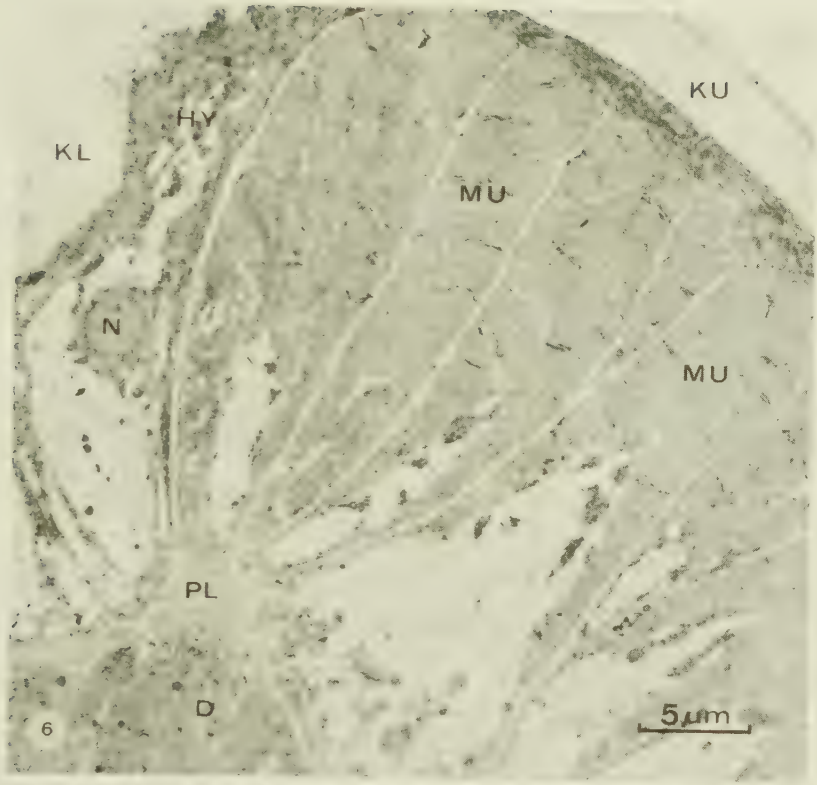
KU
HY
MU
HL
MU
AX
3 µm
4
NT
NT
0,5 µm
5

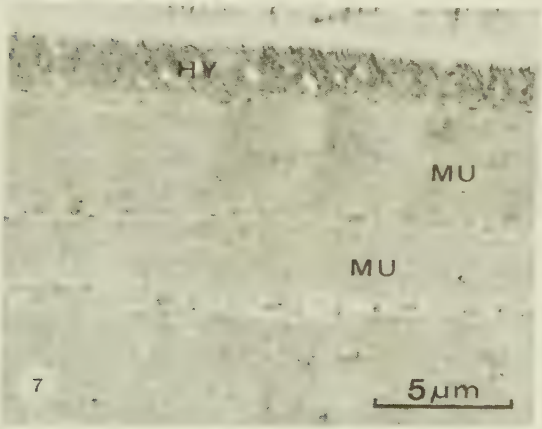
Abb. 6 - 8 Längsmuskulatur. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 6 Querschnitt durch mehrere Längsmuskelzellen. Deutlich setzt sich ein peripherer "kontraktiler" Muskelzellabschnitt von einem zentralen "zytoplasmatischen" Zellabschnitt ab. Kutikulaleisten (KL) verleihen der Körperwand zusätzliche Stabilität.

Abb. 7 Längsschnitt durch eine Muskelzelle. Die Myofibrillen verlaufen in einem spitzen Winkel zur Zellachse.

Abb. 8 Myofilamente. Um jedes Myosinfilament (Pfeile) sind zahlreiche Aktinfilamente gruppiert.
Querschnitt.


KU
HY
KL
MU
N
MU
PL
D
6
5µm

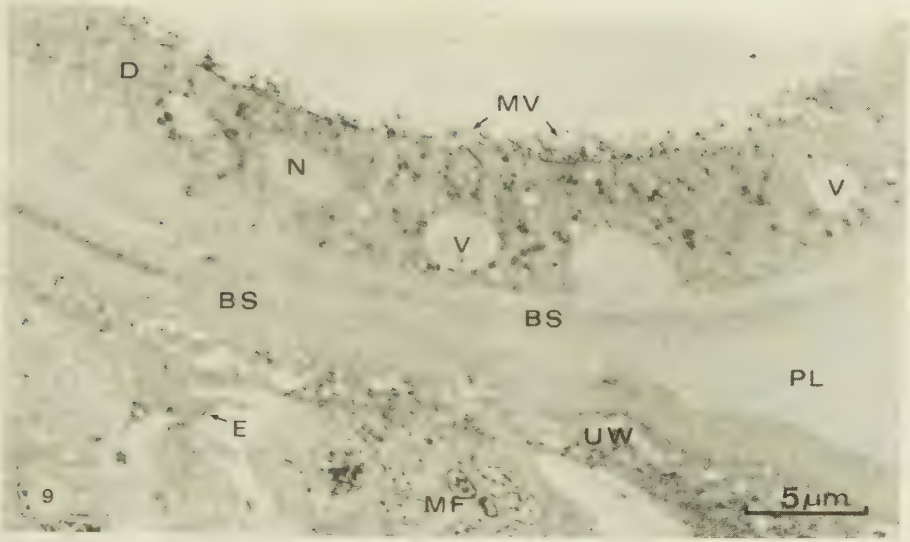

HY
MU
MU
7
5µm

0,3µm
8

Abb. 9 - 10 Mitteldarm. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 9 Das einschichtige Darmepithel sitzt einer homogenen Basalschicht (BS) auf. In das Darmlumen ragt ein dichter Mikrovillisaum (MV).

Abb. 10 Darmepithelzelle (Pfeile: seitliche Zellgrenzen).


D
MV
N
V
V
BS
BS
PL
E
UW
MF
9
5µm

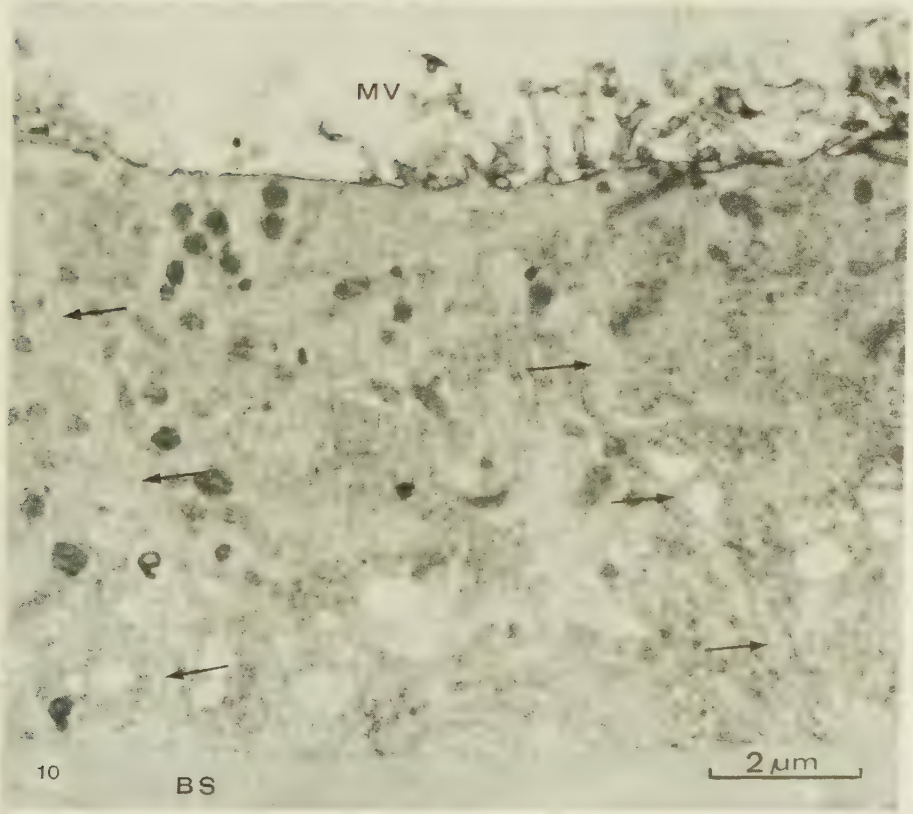
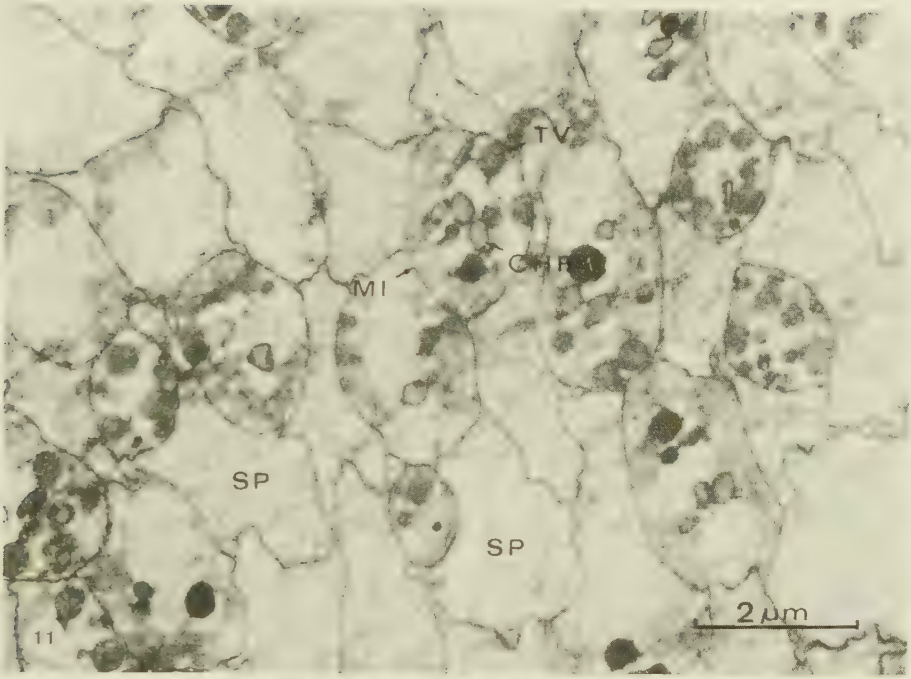

MV
10
BS
2µm

Abb. 11 - 12 Receptaculum seminis. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 11 Neben Mitochondrien (MI) und tubulären Vesikeln (TV) enthalten die Spermatozyten (SP) elektronendichte Granula, in denen sich das genetische Material befindet (CHR).

Abb. 12 Im Receptaculum seminis findet die Befruchtung der Oozyten (OZ) statt.


TV
MI
SP
SP
2 µm
11

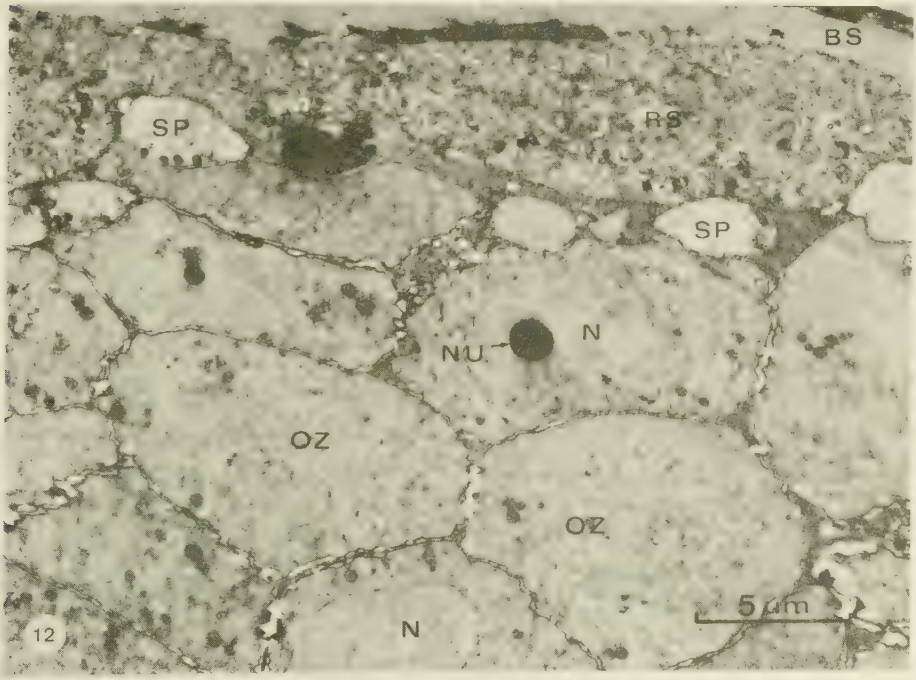
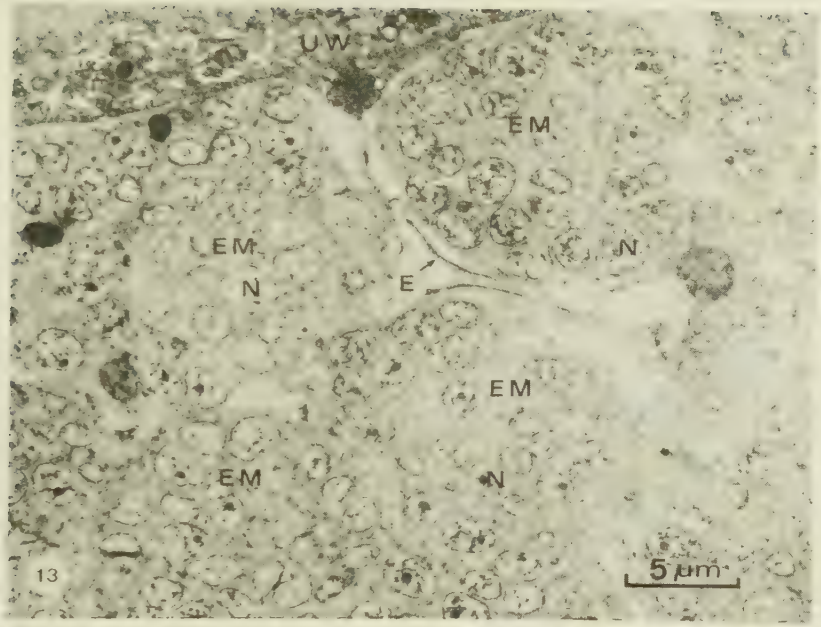

BS
SP
RS
SP
N
NU
OZ
OZ
5 µm
12
N

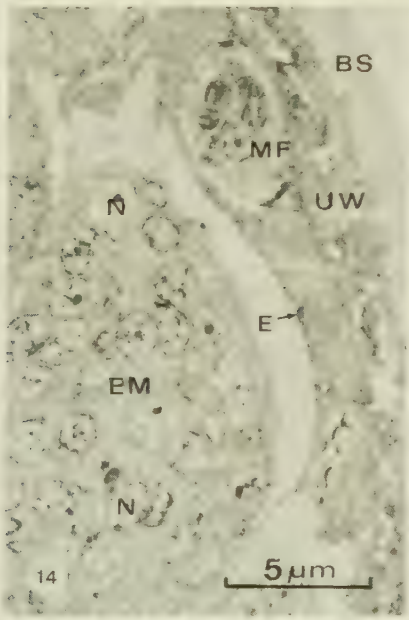
Abb. 13 - 15 Verschiedene Entwicklungsstadien von Filarienlarven. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 13 Embryonen im Blastulastadium. Jeder Embryo ist von einer Eihaut (E) (= Scheide) umgeben.

Abb. 14 Neben Embryonen früher Entwicklungsstadien liegt eine voll entwickelte Mikrofilarie (MF), die ihre Eihaut bereits abgestreift hat.

Abb. 15 Eine in Streckung befindliche Mikrofilarie. Im Zentrum des Uteruslumens liegt ein abgestorbener Embryo (Stern).


UW
EM
EM
N
E
N
EM
EM
N
13
5 µm


BS
MF
N
UW
E
EM
N
14
5 µm

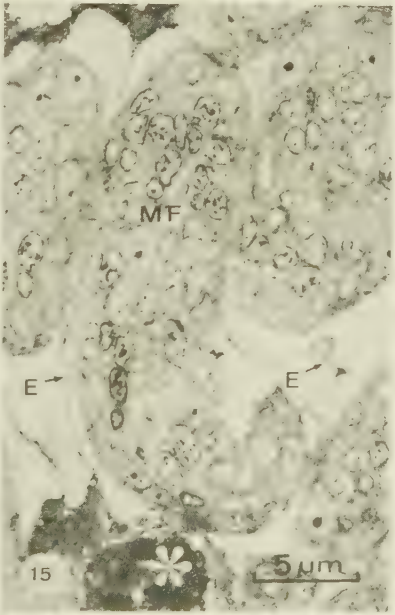
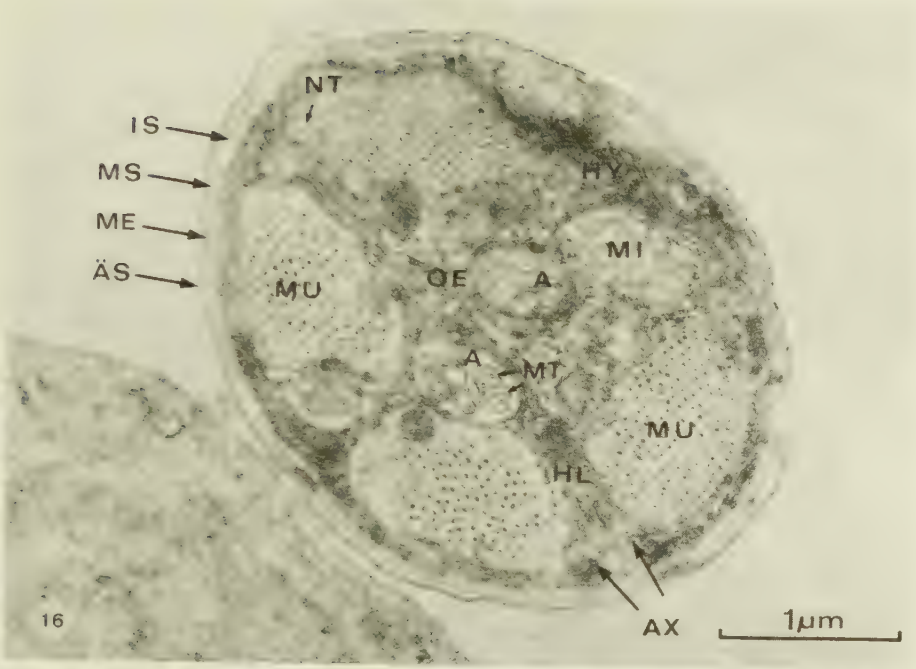

MF
E
E
15
5 µm

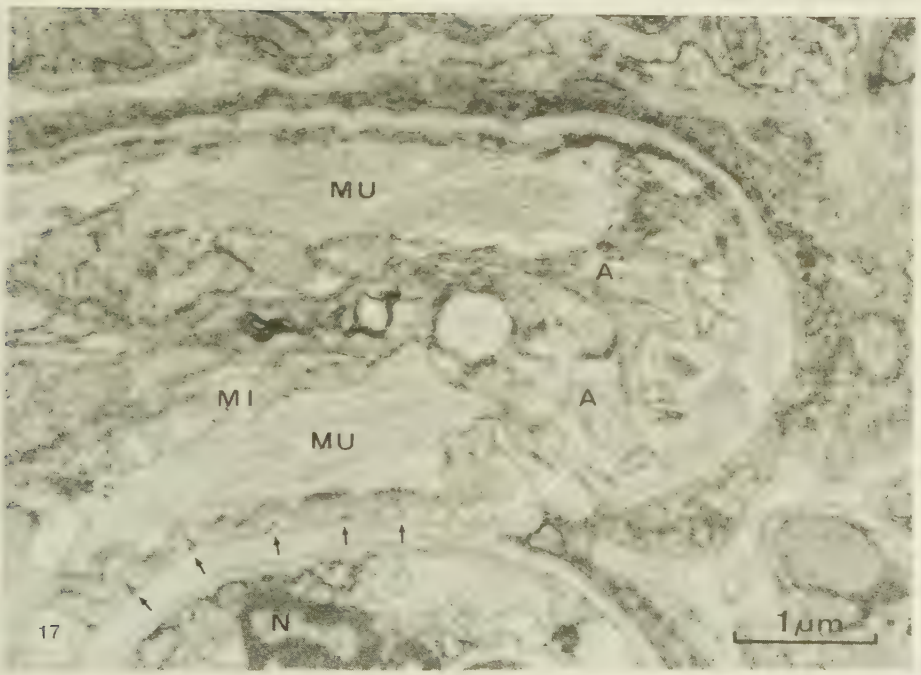
Abb. 16 - 17 Mikrofilarien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 16 Querschnitt durch das rostrale Ende einer Mikrofilarie. Die als Sinnesorgane fungierenden Amphiden (A) bestehen aus mehreren zilienartigen Gebilden, die bis zu zwölf Mikrotubuli (MT) enthalten.

Abb. 17 Längsschnitt durch das rostrale Ende einer Mikrofilarie. Die Kutikula weist eine regelmäßige Ringelung auf (Pfeile).
Deutlich sind die "Zilien" in den Amphidenkanälen zu erkennen (A).



16



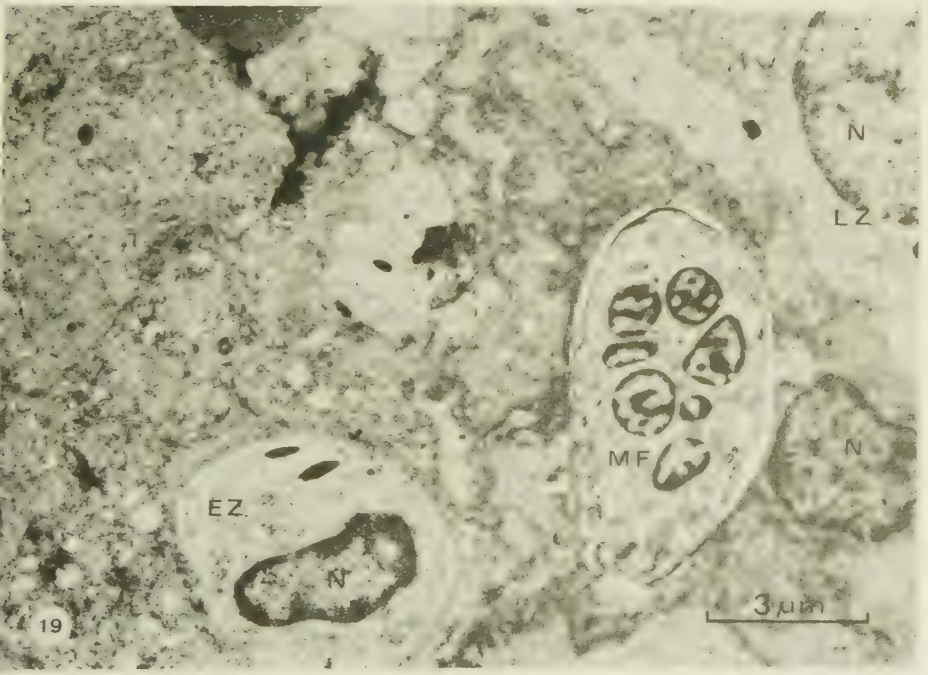
17

Abb. 18 - 19 Mikrofilariennachweis in verschiedenen Organproben. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 18 Mikrofilarie in einer Kapillare des Großhirns. Unbehandeltes Exemplar von M.natalensis.

Abb. 19 Mikrofilarie in der Milz eines unbehandelten Versuchstieres.

18



19

Abb. 20 - 22 Mikrofilariennachweis in verschiedenen Organproben. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 20 Intrakapilläre Mikrofilarie im distalen Tubulusbereich der Niere eines mit Diäthylkarbamazin behandelten Tieres.

Abb. 21 Mikrofilarie in einer Zwerchfellkapillare eines unbehandelten Tieres. Der Pfeil weist auf die Austrittsöffnung des Analporus.

Abb. 22 Mesenterialer Lymphknoten eines mit Diäthylkarbamazin behandelten Tieres. Ein mehrkerniger Phagozyt hat die Larve fast vollständig umschlossen. Die Kutikula ist deutlich verbreitert, das Plasma der Larvenzellen ist vermehrt elektronendurchlässig, die Zellorganellen sind größtenteils zerstört (Pfeil: Zellausläufer des Phagozyten).

N
MF
ERY
N
MI
5 µm
20

ERY
N
N
3 µm
21

MF
N
PZ
22
N

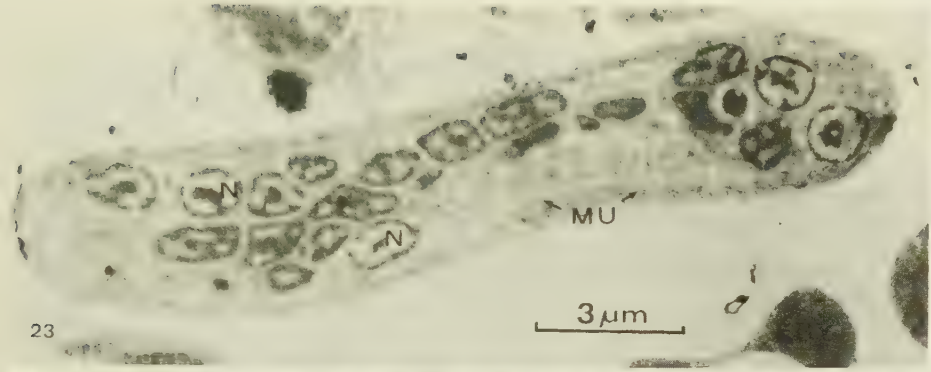
Abb. 23 - 26 Mikrofilarien im Lungengewebe. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 23 Mikrofilarie im Lumen einer Alveole eines unbehandelten Tieres.

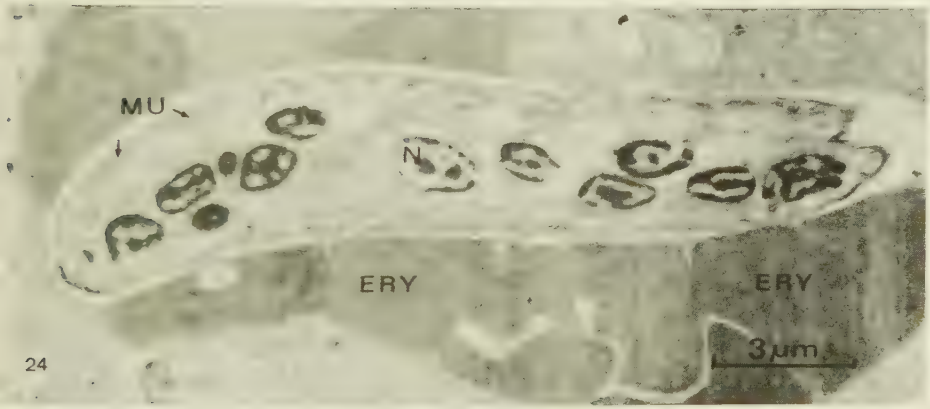
Abb. 24 Intrakapilläre Mikrofilarie unter Therapie mit Diäthylkarbamazin. Das Zytoplasma der Larvenzellen weist eine vermehrte Elektronentransparenz auf als Ausdruck einer beginnenden Schädigung.

Abb. 25 Larvenquerschnitte in Lungenkapillaren eines unbehandelten Tieres.

Abb. 26 Typischer Aspekt einer Mikrofilarie unter Therapie mit Metrifonat. Neben elektronenlichten, organellfreien Zellen finden sich zahlreiche extrem elektronendichte Areale, sog. "osmiophilic myelin figures" (OF).



23



24

25

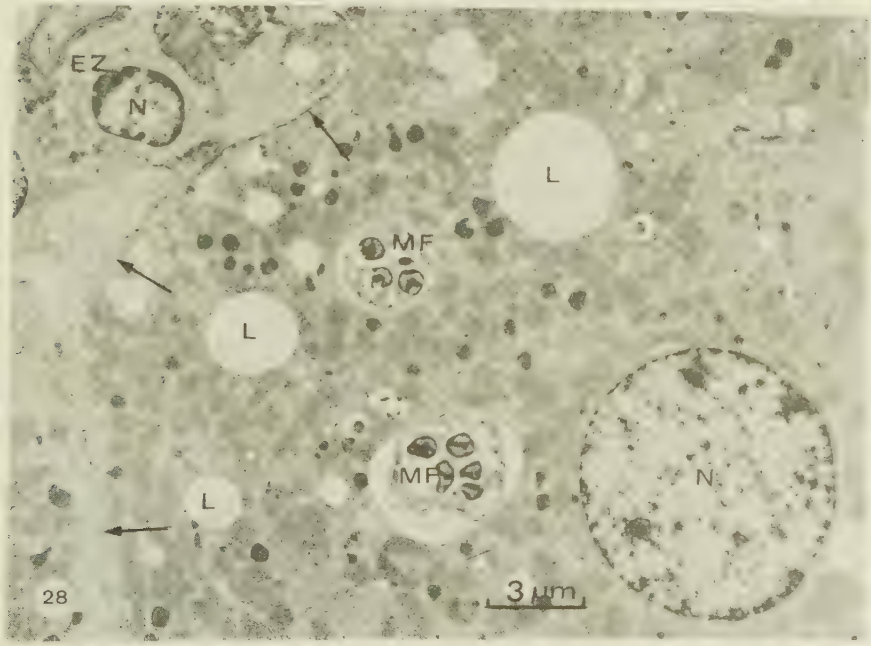
26

Abb. 27 - 28 Mikrofilarien in Hepatozyten. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 27 Zwei Mikrofilarien im Zytoplasma eines Hepatozyten unter Therapie mit Diäthylkarbamazin. Die schlanken Pfeile weisen auf die Zellmembran. Der dicke Pfeil markiert die Austrittsöffnung der Renette.

Abb. 28 Zwei Mikrofilarien in einem Hepatozyten eines mit Metrifonat behandelten Versuchstieres (Pfeile: Zellmembran des Hepatozyten).

27



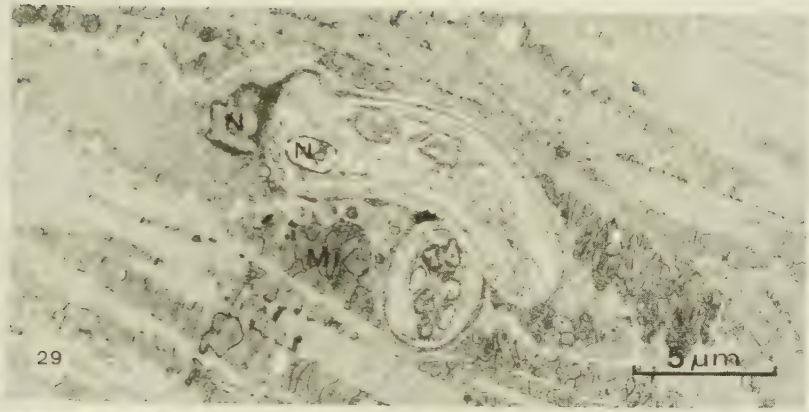
28

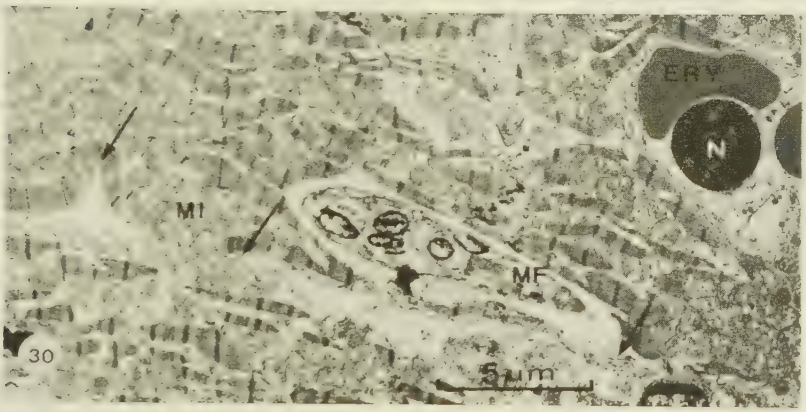
Abb. 29 - 31 Mikrofilarien im Wirtsmuskelgewebe verschiedenen Ursprungs. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Abb. 29 Intrakapilläre Mikrofilarie in der Zwerchfellmuskulatur eines unbehandelten Tieres.

Abb. 30 Mikrofilarie in einer Herzmuskelzelle unter Therapie mit Diäthylkarbamazin (Pfeile: Muskelzellmembran).

Abb. 31 Wurmlarve in einer Zwerchfellmuskelzelle unter Therapie mit Metrifonat (Pfeile: Muskelzellmembran).


N
NL
MI
29
5 µm


ERY
N
MI
MF
30
5µm

N
MF
31
5µm
ERY

Abb. 32 - 33 Elektronenmikroskopische Beobachtungen am Nagerauge

Abb. 32 Kammerwasserführendes Trabekelsystem (T). Kein Larvennachweis.

Abb 33 Larvenquerschnitt in einer Netzhautkapillare eines unbehandelten Tieres.

32

33

Abb. 34 Die Schichten der Bulbuswand. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

Die inneren Schichten der Retina. Querschnitt einer Mikrofilarie in einem Netzhautgefäß eines unbehandelten Versuchstieres.

MLI
MF
ERY
SGNO
SPI
N
N
SGI
N
SPE
10 µm
ERY

Abb. 35 Die Schichten der Bulbuswand. Elektronenmikroskopische Aufnahme

Äußere Retinaschichten, Chorioidea (CH), Sklera (SC).

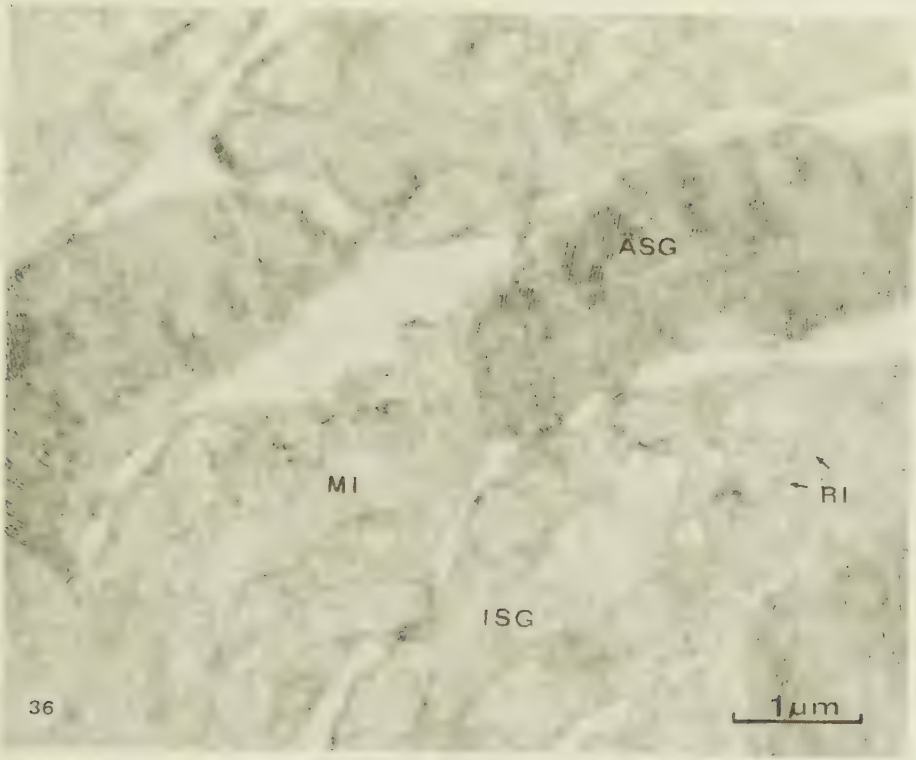
SGE
N
MLE
SNE
N
SPR
LVB
CH
SC
10 µm

Abb. 36 - 38 Elektronenmikroskopische Beobachtungen aus verschiedenen Schichten der Bulbuswand

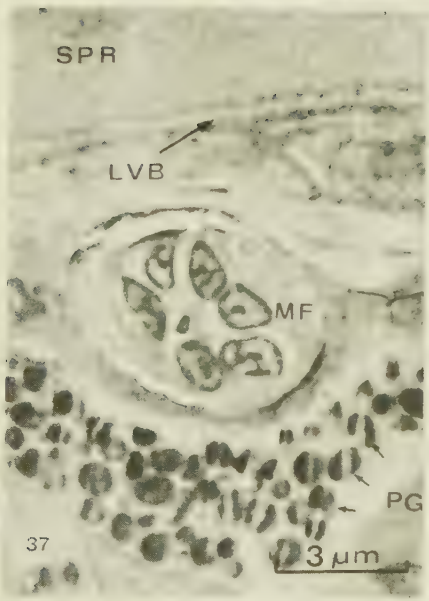
Abb. 36 Studie im Bereich des Übergangs zwischen innerem und äußerem Stäbchensegment.

Abb. 37 Interzellulär gelegene Mikrofilarie in der Chorioidea eines unbehandelten Tieres.

Abb. 38 In den spärlich vorhandenen Kapillaren des Stratum plexiforme externum waren keine Mikrofilarien nachzuweisen.



36



37

38

Abb. 39 Mikrofilarienbefall des Nagerauges.
Elektronenmikroskopische Aufnahme

Zwei Filarienlarven in Gefäßen der Choriokapillaris eines unbehandelten Tieres.

SPR
PG
NU
N
LVB
ERY
MF
PG
MF
CH
ERY
MF
5μm
N

Abb. 40 - 43 Inokulation von Filarienlarven in verschiedene Abschnitte von Kaninchenaugen

Abb. 40 Inokulation von Mikrofilarien in die Vorderkammer. 4. Woche post inoculationem (p.i.): Hornhaut und Vorderkammer sind klar. Vordere Synechie bei 12^{00} Uhr, zirkuläre hintere Synechien. Katarakt.

Abb. 41 Inokulation von Mikrofilarien in die Vorderkammer. 22. Woche p.i.: Gefäßeinsprossung in die Hornhaut. Die Iris liegt dem Hornhautendothel vollständig an. Der Irissaum ist aufgefasert. Katarakt.

Abb. 42 Inokulation von Mikrofilarien in den Glaskörper. 3. Woche p.i.: Die Hornhaut ist getrübt und weist oberflächliche und tiefe Gefäßeinsprossungen auf. Hintere Synechien von 5^{00} bis 9^{00} Uhr. Weißgraue Trübung des Glaskörpers.

Abb. 43 Inokulation von metazyklischen Larven in die Vorderkammer. 34. Woche p.i.: Oberflächliche Gefäßeinsprossungen zwischen 2^{00} und 7^{00} Uhr. Ausgedehnte, zentrale Hornhautnarbe.

40

41

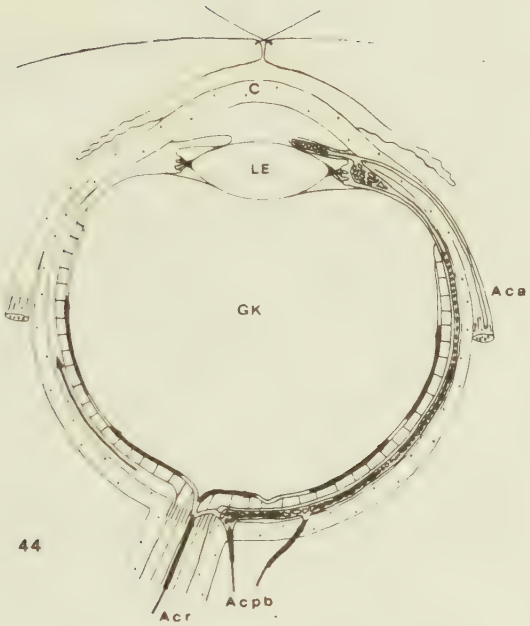
42

43

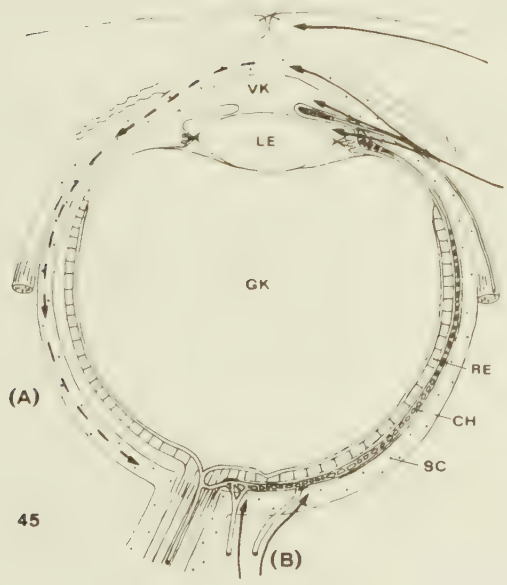
Abb. 44 - 45 Schematische Darstellung der Befallswege des Auges bei intravasalem und interstitiellem Ausbreitungsmodus der Mikrofilarien

Abb. 44 Intravasaler Befallsweg: die Mikrofilarien erreichen den hinteren Augenpol über die kurzen, hinteren Ziliararterien (Acpb) und über die Zentralarterie (Acr) (Pfeile).

Abb. 45 Interstitieller Befallsweg: nach dem Befall des Hornhautstromas und der Vorderkammer erreichen die Larven den hinteren Augenpol über die Interzellularräume der Sklera (A) (gestrichelter Pfeil).
Einer zweiten Theorie zufolge stellt das perivaskuläre Bindegewebe der kurzen Ziliararterien eine Eintrittspforte zum hinteren Augenpol dar (B).



44



45

Danksagung

Herrn Professor Dr. J. Grüntzig und Herrn Professor Dr. H. Mehlhorn danke ich für die Anregung zur vorliegenden Dissertation.

Insbesondere danke ich Herrn Professor Dr. J. Grüntzig für die Betreuung bei der Durchführung der Tierexperimente und für seinen kritischen Rat bei der Abfassung des Manuskriptes.

Herrn Professor Dr. H. Mehlhorn danke ich für die gründliche Einführung in die Methoden der Elektronenmikroskopie und für die Gewährung eines Arbeitsplatzes.

Nicht unerwähnt bleiben darf die Unterstützung bei den fotographischen Arbeiten durch Frau L. Langenstraßen, der ich ebenfalls herzlich danken möchte.

Herrn Professor Dr. G. Arnold gilt mein Dank für seine spontan erklärte Bereitschaft zur Übernahme des Korreferates.

Abschließend habe ich ohne Ausnahme allen Angehörigen des Institutes für Zoologie II zu danken, die mir in zahlreichen Gesprächen hilfreiche Anregungen gaben.

Lebenslauf

Am 5. August 1955 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Helmut Steinhorst und dessen Ehefrau Hedwig, geborene Schlüter, in Münster (Westfalen) geboren. Hier absolvierte ich auch meine Schulausbildung, die ich am 12. Juni 1974 mit den Prüfungen für das Abitur abschloß. Nach Ableistung des Wehrdienstes nahm ich im Sommersemester 1976 mein vorklinisches Studium an der veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin auf. Zum Wintersemester 1977/78 wechselte ich an die medizinische Fakultät der Universität Düsseldorf über, wo ich im Frühjahr 1978 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Nach dem ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Frühjahr 1979 schrieb ich mich im Herbst 1979 an der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät im Fach Biologie ein. Noch im gleichen Jahr nahm ich die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation auf. Im Anschluß an den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung absovierte ich mein praktisches Jahr an den Städtischen Krankenanstalten Krefeld in den klinischen Fächern Chirurgie, Augenheilkunde und Innere Medizin. Am 19. April 1982 schloß ich mein Medizinstudium mit der ärztlichen Prüfung ab.